

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

**A CORONARIA MIKROEREK VAZOMOTOR MŰKÖDÉSÉNEK VIZSGÁLATA
METABOLIKUS SZINDRÓMÁBAN SZENVEDŐ BETEGEKBEN**

DR. FÜLÖP TIBOR

Témavezetők:

Prof. Dr. Édes István és Dr. Bagi Zsolt

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum

Doktori Iskola

Debrecen, 2008.

I. TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	6
2.1. A HUMÁN CORONARIA MIKROKERINGÉS ÉLETTANI KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT.....	6
2.1.1. <i>A coronaria áramlást szabályozó metabolikus és neuronális faktorok</i>	<i>6</i>
2.1.2 <i>A coronaria áramlást szabályozó lokális faktorok</i>	<i>8</i>
2.1.3. <i>Az endothel szerepe a coronaria keringés szabályozásában</i>	<i>9</i>
2.2. A METABOLIKUS SZINDRÓMA HATÁSA AZ ENDOTHEL FUNKCIÓRA	11
2.2.1. <i>Az elhízás és endothel diszfunkció</i>	<i>11</i>
2.2.2. <i>A magasvérnyomás és endothel diszfunkció</i>	<i>14</i>
2.2.3. <i>A diabetes mellitus és endothel diszfunkció.....</i>	<i>16</i>
3. METODIKÁK.....	21
3.1. A BETEGEK JELLEMZÉSE.....	21
3.2. IZOLÁLT HUMÁN CORONARIA MIKROÉRTECHNIKA	23
3.3. A HUMÁN CORONARIA ARTERIOLÁK MŰKÖDÉSÉNEK VIZSGÁLATA VAZOAKTÍV SZEREKKEL	24
3.4. IMMUNHISZTOKÉMIA.....	25
3.5. AZ EREDMÉNYEK STATISZTIKAI ÉRTÉKELÉSE.....	26
4. EREDMÉNYEK.....	27
4.1. A MAGASVÉRNYOMÁS ÉS ELHÍZÁS HATÁSA A CORONARIA ARTERIOLÁK VAZOMOTOR MŰKÖDÉSÉRE	27
4.2. DIABETES MELLITUS HATÁSA A CORONARIA ARTERIOLÁK VAZOMOTOR MŰKÖDÉSÉRE	31
5. MEGBESZÉLÉS.....	37
5.1. AZ ELHÍZÁS ÉS MAGASVÉRNYOMÁS HATÁSA A KORONÁRIA MIKROEREK VAZOMOTOR MŰKÖDÉSÉRE	37
5. 2. DIABETESZ MELLITUS HATÁSA A KORONÁRIA MIKROEREK VAZOMOTOR MŰKÖDÉSÉRE	40
6. ÖSSZEFOGLALÁS.....	45
7. IRODALOMJEGYZÉK.....	46
8. TÁRGYSZAVAK.....	62
9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	63
10. FÜGGELÉK	64

1. BEVEZETÉS

A kóros mértékű elhízás napjaink társadalmának igen nagy kihívást jelentő problémája. Világszerte 1,7 milliárd ember súlyosabb a kelleténél, és az elhízás prevalenciája folyamatosan nő; napjainkban már a fiatal felnőttek és a gyerekek körében is igen elterjedt (Deitel, 2003). Az elhízás mértékének jellemzésében, annak definiálásában a testtömeg-index (BMI, body mass index) nyújt segítséget, amelyet a kilogrammban mért súly és a méterben mért magasság négyzetének hányadosa ad meg. Túlsúlyosnak tekinthető az a felnőtt, akinek BMI értéke 25 és 29,9 között van, míg elhízásról 30-nál nagyobb BMI esetén beszélhetünk. Az Egyesült Államokban a felnőttek 34%-a túlsúlyos és emellett közel 30%-uk elhízottnak mondható (Flegal, 2002).

A kardiovaszkularis betegségek tekintetében kiemelkedő szereppel bír egy metabolikus eltéréseket magába foglaló fogalom: a metabolikus szindróma, amelyben a centrális elhízás központi kóroki szerepet játszik. Ehhez társulhat károsodott glükóz tolerancia, magas vércukor szint, lipid eltérések, így emelkedett triglicerid szint és csökkent magas denzitású lipoprotein (HDL) szint, valamint a magasvérnyomás betegség. A szindróma International Diabetes Federation által megalkotott legújabb definíciója (Zimmet, 2005) szerint diagnózisa akkor állítható fel, ha a centrális obesitás mellett legalább két fentebb említett metabolikus eltérés megtalálható. A centrális elhízás meglétét európai férfiak esetén a 94 centiméternél, míg európai nők esetén a 80 centiméternél nagyobb vagy egyenlő haskörfogot esetén mondhatjuk ki. A metabolikus szindróma megléte esetén mintegy 3,51-szeresére emelkedik az újonnan fellépő 2-es típusú diabetes mellitus kialakulási valószínűsége (Sattar, 2003). Egy másik tanulmány alapján metabolikus szindróma esetében 2,07-szorosára, míg diabetes fennállása esetén 3,53-szorosára, a két betegség egyidejű fennállása esetén 8,19-szorosára emelkedik a kardiovaszkuláris mortalitás (Haffner, 2006).

Bár maga a metabolikus szindróma alapvetően a szervezet metabolikus egyensúlyának megbomlása, a hozzá társuló kardiovaszkularis szövődmények miatt a népesség morbiditásának és mortalitásának jelentős hányadáért tehető felelőssé. A diabeteses betegek több mint 80%-a kardiovaszkularis okból hal meg (Winer, 2004). Epidemiológiai vizsgálatok alapján a a metabolikus szindróma talaján kialakuló 2-es típusú diabetes mellitus fennállása 2-4-szeres rizikófokozódást jelent a különböző kardiovaszkularis események kialakulásában (Fox, 2004). Megdöbbentő statisztikai adat, hogy diabetes mellitusban a szívinfarktus kialakulásának kockázata a már korábban egyéb okból szívinfarktuson átesett betegek rizikófokozódásával azonos nagyságú (Haffner, 1998).

Jól ismert, hogy a hosszú ideig fennálló humán metabolikus szindróma és a következményesen kialakuló 2-es típusú diabetes mellitus következtében a coronária nagyerekben ún. felgyorsult atherosclerosis alakul ki, amely nagymértékben hozzájárul a kardiovaszkularis mortalitás növekedéséhez. Korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a nagy coronaria ágakat érintő atheroscleroticus elváltozások előtt, illetve azzal párhuzamosan metabolikus szindrómában károsodik a coronaria mikroerek működése, ami a coronaria főágak elzáródása előtt is a szív szöveti keringésének megváltozásához, végsőoron ischaemiás szívizom károsodáshoz vezethet. A metabolikus szindrómában szenvedő betegekben a coronaria mikroér működés természete és a háttérben álló pontos kórélettani mechanizmusok azonban nem kellően ismertek.

A metabolikus szindróma multifaktorilális eredetű és feltehetőleg az azt jellemző fő kórállapotok, mint például a kóros mértékű elhízás, magasvérnyomás és diabetes mellitus együttesen hatással van az kardiovaszkuláris rendszer működésére. Az, hogy az egyes, metabolikus szindrómában fennálló kórállapotok hogyan változtatják meg a coronária erek vazomotor működését még nem kellően ismert. Mindezek alapján tudományos kutatásaimban az alábbi célkitűzéseket fogalmaztam meg.

1. Vizsgáljam a szívsebészeti műtéten átesett betegekből származó, izolált coronaria mikroerek vazomotor működését.
2. Feltárjam, hogy metabolikus szindrómában, az egyes kórállapotok, mint például az elhízás, a magasvérnyomás és a diabetes mellitus jelenléte milyen hatással van a coronaria mikroerek vazomotor működésére.
3. Továbbá, hogy vizsgáljam az elváltozások háttérében álló endothel- és simaizom sejtek által közvetített mechanizmusokat.

A kísérleteink eredményei és az azokból levonható következtetések segíthetnek a humán metabolikus szindrómában kialakuló coronária mikroér funkciózavar kórélettani folyamatainak megismerésében, valamint hozzájárulhatnak a megváltozott mikorérműködés és feltehetőleg annak következtében kialakuló kardiális rizikó csökkentésére irányuló gyógyszeres terápiás elvek pontosabb kidolgozásához.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A humán coronaria mikrokeringés élettani körülmények között

Szívünknek minden dobbanásához óriási mennyiségű oxigénre és tápanyagra van szüksége, így a mindenkori igényeket kielégítő vérellátás alapvető jelentőségű a működése szempontjából. A coronaria mikroerek tulajdonsága, hogy bizonyos élettani stimulusokra jelentős értágulattal válaszolnak, ezáltal biztosítva a fokozott szükségletnek megfelelő vérellátást. A coronaria keringés szabályozása összetett folyamat eredménye, melyben több metabolikus, idegi és lokális mechanizmus vesz részt (Feigl, 1983). A szívizom perfúzióját - más szövetekhez hasonlóan - elsődlegesen a rezisztenciaerek átmérője határozza meg. Habár korábban számos, elsősorban állatkísérletes vizsgálatot végeztek a coronaria mikrokeringés ép és kóros körülmények közötti sajátosságainak tisztázására, a humán coronaria mikrokeringés pontos szabályozó mechanizmusai, annak kórállapotokban megfigyelt eltérései a mai napig nem kellő mértékben tisztázottak.

2.1.1. A coronaria áramlást szabályozó metabolikus és neuronális faktorok

Metabolikus szabályozás

Amikor a szívizom anyagcseréje fokozódik, a metabolikus faktorok szöveti koncentrációja jelentősen megemelkedik. A coronaria áramlás a szöveti oxigén felhasználás és a metabolitok helyi koncentrációjának függvényében változik (Feigl, 1983). A megnőtt anyagcsereigényeket kielégítő véráramlás növekedést *metabolikus vagy funkcionális hyperaemiának* nevezzük (Feigl, 1983). A szív funkcionális hyperaemiájának hátterében számos mediátor szerepe felmerült az évek során, mint például adenozin, kálium ionok, kálium csatornák, acidosis és hypercapnia (Gorman, 1995). Az *adenozin* egy potens vazodilatátor, amely akkor keletkezik, amikor az intracellularis adenozin monofoszfátot

(AMP-t) - mely a szívizom sejtekben a fokozott anyagcsere és hypoxia folyamán a megemelkedett adenosin trifoszfát (ATP)-lebontás eredményeként halmozódik fel - a sejtmembránban lévő 5'-nukleotidáz defoszforilálja. Kikerül az extracelluláris térbe, és a vaszkuláris simaizom A_2 -receptorán keresztül a sejtben belüli ciklikus AMP (cAMP) szintet megemelve okoz vazodilatációt. Az intracelluláris ATP koncentráció csökkenése az ATP-függő kálium-csatorna (K_{ATP} -csatorna) nyitását is kiváltja, ami simaizom hyperpolarizációt és ér dilatációt okoz (Noma, 1983). Érdekes elképzelés, hogy a kálium csatorna nyitásával az extracelluláris térbe kiszabaduló kálium ionok a simaizom Na/K-ATP-áz aktiválása révén ugyancsak arteriola dilatációhoz vezethetnek. Újabban azt feltételezik, hogy az adozinnak és a K_{ATP} -csatorna nyitásának csak súlyos ischaemiában jut jelentős érátmérőt szabályozó szerep (Duncker, 1996), ezért a coronaria keringés szabályozásában számos egyéb, az alábbiakban ismertetendő mechanizmus szerepe is felmerült.

Neuronális szabályozás

Alfa (α)-adrenerg szabályozás: Az α -adrenerg receptorok ingerlése az összes vaszkuláris simaizom sejtben vasoconstríktiót vált ki. Korábbi vizsgálatok szerint a nyugalmi α -adrenerg tónus minimális szintű a coronaria mikroerek szintjén (Muntz, 1985, 1986). *Béta (β)-adrenerg szabályozás:* A β -adrenerg receptorok ingerlése a coronaria erek vazodilatációját váltja ki (egyrészt közvetlenül a simaizmokra hatva, másrészt közvetve a fokozott metabolikus aktivitáson keresztül) (Parent, 1993). Az α -receptorok elenyésző szerepével szemben a β -receptorok a nyugalmi tónus meghatározásában jelentős szerepet játszanak. A coronaria arteriolák szinte kizárólag β_2 -receptorokat tartalmaznak (Sun, 2002; Vatner, 1986). *Paraszimpatikus, cholinerg szabályozás:* Mind a nervus vagus stimulációja, mind acetilkolin (ACh) adása a coronaria mikroerek dilatációját váltja ki, és a coronaria perfúziót fokozza (Lamping, 1992). A kisebb átmérőjű mikroerek szintjén az így kiváltott dilatációs válasz arányaiban nagyobb mértékű.

2.1.2 A coronaria áramlást szabályozó lokális faktorok

Az érfalra kétféle mechanikai erő hat: az egyik a vérnyomásból eredő, és körkörösén ható, a másik pedig a véráramlás okozta súrlódásból eredő hosszirányú nyíróerő. Az érrendszer intrinsic szabályozó mechanizmusai révén igazítja ezen erőkhez az átmérőt és a lokális véráramlást. A vaszkularis tónus kialakításában két fő út létezik: az endothel-független, vascularis simaizom-mediált myogén mechanizmus és az endothel-függő, áramlás kiváltotta dilatáció (Gorman, 1995).

Az endotheltől független *myogén mechanizmus* lényege, hogy az intraluminális nyomás megemelkedésére az erek konstriktóval válaszolnak (Bayliss-effektus, 1902), és fordítva. Az érösszehúzódás következtében a falfeszülés csökken (Laplace-törvény), így az érfal károsodása megelőzhető, míg a nyomáscsökkenésre létrejövő dilatáció a mikroerek kollapszusát hivatott kivédeni. A myogén mechanizmus az érátmérő nagyságától függően eltérő mértékben - a mikroerekben ($< 300\ \mu\text{m}$) nagyobb jelentőséggel - vesz részt az értónus szabályozásában. A vaszkularis simaizmomban lévő feszülés-aktivált, nem-szelektív kation-csatornának tulajdonítják a receptor szerepet, amely a falfeszülés hatására megnyílik, a simaizom depolarizációját és feszültség függő kalcium-csatornán keresztül kalcium beáramlást eredményezve. Az intracellularis kalcium koncentráció növekedése a sejten belüli raktárakból további kalcium felszabaduláshoz vezet (Davis, 1992).

A lokális véráramlás szabályozásának másik fontos tényezője az *áramlás indukálta vazodilatáció* (Rubanyi, 1986a). A folyamat endothel-függő (Davies, 1995), és elsősorban a nagyobb arteriolákban ($100\text{-}200\ \mu\text{m}$) játszik fontos szerepet az érátmérő szabályozásában (Kuo, 1995). A fal nyíróerő hatására az endothelben mechanotranszdukciós utakon számos vazodilatatív faktor termelődhet (pl.: NO, prosztaciklin), melyek a simaizmok hyperpolarizációját és ér dilatációt váltanak ki (Koller, 1993; Kuo, 1995).

2.1.3. Az endothel szerepe a coronaria keringés szabályozásában

Az erek belfelszínét alkotó *endothelsejtekből* álló biológiailag aktív rétegnek kiemelkedően fontos szerepe van az ép keringés és az ebből adódó ép szöveti funkció fenntartásában. Az endothel szabályozza a permeabilitást, a véralvadás és fibrinolízis közötti egyensúlyt, a subendothelialis matrix produkciót, a leukocyták adhézióját és szöveti extravazációját és az érfali gyulladásos mediátorok termelődését. Számos sejttípus, köztük az érfali simaizom sejtek, vérlemezkék, leukocyták, óriás macrophagok, pericyták működését befolyásolja. A fenti feladatok ellátásához különféle mediátorok endotheliális termelésére van szükség: extracellularis matrix alkotóelemeire (pl.: kollagén), regulatórikus mediátorokra (nitrogén monoxid [NO], prosztanoidok, endothelin-1, angiotenzin II, szöveti típusú plazminogén aktivátor [t-PA], plazminogén aktivátor inhibitor [PAI-1], von Willebrand faktor [vWF], adhéziós molekulák, citokinek) (Schalkwijk, 2005). Az endothel emellett aktívan szabályozza az értónust is. A vérben keringő anyagok, valamint a véráramlással összefüggő nyíróerő stimuláló hatására az endothel sejtek képesek mind vazokonstriktor, mind vazodilatátor anyagok termelésére.

A legfőbb endotheliális *vazodilatátorok* közé tartozik a *nitrogén monoxid* (NO, korábbi nevén: endotheliális relaxáló faktor=EDRF), a prosztaciklin (PGI_2) és az endotheliális hiperpolarizáló faktor (EDHF). A NO L-arginin aminosavból és molekuláris oxigénből képződik a NO szintetáz (NOS) hatására. A keringési rendszer egyik NOS formája az endotheliális NOS (eNOS) (Palmer, 1988), ez az enzim felelős az endothelsejtek (emellett egyes feltételezések szerint a vérlemezkék és a szívizomzat) folyamatos NO termeléséért. A NOS kofaktorai a redukált adenin dinukleotid foszfát (NADPH) és a tetrahidrobiopterin (BH_4) (Vasquez-Vivar, 1998). Az eNOS aktiválódik, ha nő az intracelluláris kalcium-ion koncentráció, a kalcium-kalmodulin komplexek kialakulása révén. Korábbi vizsgálatok szerint az eNOS aktiválása révén okoznak vazodilatációt a helyben felszabaduló acetilkolin,

bradikinin, adenin, adenosin nukleotidok, hisztamin, szerotonin, valamint a neurotranszmitter P-anyag. Az endothelsejtből felszabaduló NO az érfalon keresztül a környező simaizom sejtekbe diffundál, ahol egy citoszolban lévő enzimet, a szolubilis guanil-ciklázt (sGC) aktivál. Ez az enzim emeli a sejten belüli ciklikus guanozin-monofoszfát (cGMP)-szintet, amely az intracellularis Ca^{2+} -koncentráció és/vagy a simaizom Ca^{2+} érzékenységének csökkentése révén relaxációt okoz. Az értónus szabályozásán kívül a NO-nak fontos szerepe van a vérnyomás szabályozásában, a thrombocyta aggregáció, leukocyta adhézio és a simaizom sejtek proliferációjának gátlásában is (Naseem, 2005). A *prosztaciklin* (PGI_2) arachidonsavból szintetizálódik az endothel és a simaizom sejtben lévő ciklooxygenáz-1 és 2 (COX-1 és 2) enzim hatására. A simaizomsejt cAMP szintjének emelésével okoz vazodilatációt, és szerepe van a thrombocyták kitapadásának és aggregációjának gátlásában is (Aaronson, 2000). Az *endotheliális hiperpolarizáló faktor* (EDHF) a mai napig nem tisztázott természetű anyag, amelyet definíció szerint a NO és prosztaciklin gátlása után, dilatátor szerek (pl.: acetilkolin, bradikinin) hatására kialakuló, kálium-csatornák megnyitásával járó vaszkularis simaizom hyperpolarizáció jellemez (Li és Campbell, 1997).

A legfőbb endotheliális *vazokonstriktorok* az endothelin-1, az angiotenzin II, a thromboxán A_2 és a prosztaglandin H_2 . Az *endothelin-1* egy 21 aminosavból álló peptid, mely az endotheliumból szabadul fel számos vazokonstriktor anyag, beleértve az angiotenzin, a vazopresszin, a thrombin, és az adrenalin jelenlétében. G-proteinhez kapcsolt mechanizmussal okoz vasokonstriktiót (Aaronson, 2000). Az *angiotenzin II* angiotenzin I-ből képződik, az angiotenzin konvertáz enzim (ACE) hatására. Az endothel és a simaizom sejtek felszínén lévő receptoraihoz (AT-1 és AT-2) kötődve a G-protein rendszeren keresztül fejti ki hatását: az intracellularis kalcium koncentrációt növeli, vagy csökkenti a protein kináz C aktivitását és a simaizom sejtek migrációját és proliferációját fokozza, vagy gátolja (Iglarz, 2003). Ráadásul az endothel sejtek felszínén lévő angiotenzin konvertáz enzim felelős nemcsak a

vazokonstriktor hatású angiotenzin II termeléséért, hanem a hatásos vazodilatátor, a bradikinin lebomlásáért is. Az endothelsejtek képesek egyéb vazokonstriktor anyagok – beleértve prosztanoidok (*thromboxán A₂* és *prostaglandin H₂*), valamint szuperoxid anionok – felszabadítására, ez utóbbi a NO lebontása által fokozhatja a konstriktíót (Aaronson, 2000).

2.2. A metabolikus szindróma hatása az endothel funkcióra

A metabolikus szindróma komplex etiológiájú anyagcserezavarokat is magába foglaló elváltozás, melyet elsősorban az elhízás talaján kialakuló lipid anyagcserét és szénhidrát háztartást érintő eltérések, valamint a 2-es típusú diabetes mellitus és a magasvérnyomás betegség kialakulása jellemez. A metabolikus szindrómában kialakuló kardiovaszkuláris szövődmények okozzák a betegek morbiditásának és mortalitásának legnagyobb hányadát. Az intenzív klinikai és kísérletes kutatások ellenére a metabolikus szindrómában megfigyelhető szívérrendszeri elváltozások pontos kórélettani mechanizmusai és a kialakulásban szerepet játszó egyes pathológiai tényezők még ma sem teljesen tisztázottak. A metabolikus szindróma multifaktorilális eredetű és feltehetőleg az azt jellemző fő kórállapotok, mint például a kóros mértékű elhízás, magasvérnyomás és diabetes mellitus együttesen hatással van az kardiovaszkuláris rendszer működésére. Az, hogy az egyes, metabolikus szindrómában fennálló kórállapotok hogyan változtatják meg a coronária erek endothel-függő vazomotor működését még nem kellően ismert.

2.2.1. Az elhízás és endothel diszfunkció

Korábbi humán vizsgálatok alapján a metabolikus szindrómában szenvedő betegeknél a nagyerek (aorta, coronária) elsősorban a lipidanyagcsere eltérései miatt kialakult, felgyorsult ütemű atherosclerosist feltételezték. Ennek kapcsán újabb vizsgálatok kimutatták, hogy a már a fiatal kori elhízás is (15-34 éves korban) igen szoros korrelációt mutat a coronária nagyerek atherosclerosisával (Sowers, 2003). Az elhízás során megjelenő inzulin rezisztencia, az

emelkedett szabadzsírsav szint és a felszaporodott zsírszövet fokozott gyulladásos citokin termelése (pl. TNF- α és IL-6) hozzájárulhat az atherosclerosis kialakulását facilitáló állapotok létrehozásához. Ezen állapotok közé tartozik az elhízás talaján kialakuló lipideltérések (alacsony HDL-koleszterol szint, kis denz LDL-partikulumok, hypertrigliceridaemia), fokozott véralvadási hajlam (plazminogén aktivátor inhibitor szintemelkedés következtében), valamint krónikusan fennálló érfali gyulladás (fokozott CRP szint), aminek következtében vaszkularis sérülés, habos sejtekbe történő lipid akkumuláció, LDL-oxidáció és a gyulladásos sejtek migrációja jön létre, elősegítve az atherosclerotikus plakk kialakulását (Sowers, 2003).

Újabb vizsgálatok kimutatták, hogy az érfal strukturális elváltozásai előtt az elhízás korai fázisában már megváltozik a vaszkuláris endothel vazomotor működése (Huang, 2005). Kísérletes körülmények között a nagy artériák (elsősorban az arteria brachialis) endothel funkcióját a végtag 5 perces leszorítás utáni felengedésének kapcsán kialakuló érátmérőváltozással mérik, melyről feltételezik, hogy az áramlásfüggő endothel-dependens dilatációval van kapcsolatban. Ilyen kísérletes körülmények között az elhízáshoz társult metabolikus szindrómában Wendelhag és munkatársai nem találtak eltérést a betegek brachiális artéria áramlás-mediálta dilatációjának mértékében (Wendelhag, 2002), míg Esposito és mtsai szignifikánsan csökkent brachialis dilatációs válasz jelenlétéről számoltak be (Esposito, 2006).

Humán megfigyelésekhez hasonlóan az elhízás különböző állatkísérletes modelljeiben eltérő érterületek agonista szerek kiváltotta, endothel-függő érválaszainak károsodását figyelték meg izolált nagy ereken végzett vizsgálatokban. Woodman és munkatársai magas zsírtartalmú diétán tartott, hypercholesterinaemias, elhízott disznók esetében a brachiális artéria károsodott acetilkolin és bradikinin kiváltotta dilatációját találták (Woodman, 2003). Thompson és munkatársai hasonló állatmodellben a LAD (bal elülső leszálló) coronária preparátumok vizsgálatakor szintén károsodott szerotonin kiváltotta endothelium-függő dilatációt talált, ami

jelentősen javult fizikai munkavégzés hatására a magas zsírtartalmú diéta ellenére (Thompson, 2004). Reil és munkatársai magas zsír- és fruktóztartalmú diétán tartott patkányok aorta preparátumaiban találtak csökkent acetilkolin és bradikinin választ, míg a direkt NO donor nátrium nitroprusszid hatására kialakuló dilatáció mértéke nem különbözött a vizsgált csoportokban (Reil, 1999). Roberts és kutatócsoportja hasonló kísérletes elrendezésben a magas zsírtartalmú diétával táplált patkányok aortáiban az endothel dependens vazodilatáció károsodását, míg az endothel independens dilatáció megtartottságát tapasztalták (Roberts, 2004).

Igen kevés irodalmi adat áll rendelkezésre a metabolikus szindrómában jelentkező, mikroerekben kialakuló elváltozások természetét illetően. Knudson és munkatársai magas zsírtartalmú diétán tartott kutyák esetében az acetilkolin és a nátrium nitropusszid válasz vizsgálatakor nem tapasztaltak károsodást a coronária arteriolák dilatációs válaszaiban (Knudson, 2005). Henderson és munkatársai disznókat magas zsírtartalmú diétán tartva a coronária arteriolák megőrzött bradikinin és ADP dilatációs válaszát tapasztalták (Henderson, 2004). Wölflé és munkatársai in vivo vizsgálták ApoE és LDL receptor deficiens hypercholesteremiás egerek cremaster arterioláinak dilatációját és azt találták, hogy az acetilkolin kiváltotta dilatáció nem csökkent a kontroll egerekhez viszonyítva (Wölflé, 2005).

A humán és állatkísérletes ereken végzett vizsgálatok eredményeit összegezve elmondható, hogy a metabolikus szindrómában, feltehetőleg az elhízás és az azzal társuló lipidabnormalitások következtében csökken a nagy, úgynevezett konduktancia erek endothel-függő, agonista és/vagy áramlás-kiváltotta dilatációja. Ugyanakkor mikroereken az elhízás állatkísérletes modelljeiben számos kísérlet tanúsága szerint a mikroerek endothel-függő működése sokáig fenntartott lehet.

Kevés közvetlen kísérletes adat áll rendelkezésre az elhízás következtében kialakuló humán koronaria erek endothel-függő vazomotor működésnek vonatkozásában. A humán vizsgálatokban a nagy konduktancia erek, mint például a brachiális artéria non-invazív vizsgálata során nyert eredményekből csak korlátozottan vonhatók le következtetések a koronaria

rezisztencia erek eltéréseire, mivel ezeken az ereken sem a használt agonista szereknek, sem az áramlásnak nincs érátmérő szabályozó szerepe.

2.2.2. A magasvérnyomás és endothel diszfunkció

Az optimális szisztémás vérnyomás kialakításában számos centrális és perifériás mechanizmus vesz részt, melyek precízen szabályozzák a perifériás ellenállást. Számos okból kifolyólag az optimális szabályozás megváltozik magasvérnyomás betegségben (Swales, 1994, Folkow, 1990). Habár a magasvérnyomás betegség multifaktoriális, csaknem minden formájában a perifériás vaszkuláris ellenállás fokozódása figyelhető meg, amit az érlumen átmeneti majd tartós beszűkülése, érfali remodelling jellemez (Hutchins, 1974, Prewitt, 1982, Greene, 1989, Mulvany, 1990, Heistad, 1991). Korábbi klinikai vizsgálatok azt is kimutatták, a szisztémás elváltozásokkal párhuzamosan a magasvérnyomás betegség fokozza a coronaria arteria betegség kialakulásának valószínűségét (Pepine, 1998). Már korai vizsgálatok kimutatták, hogy magasvérnyomásban az epikardiális ágakat érintő atherosclerotikus elváltozások előtt a mikroerek működészavara szoros összefüggésben van az anginás epizódok kialakulásával (Brush, 1988). Klinikai vizsgálatokban azt találták, hogy az esszenciális magasvérnyomásban szenvedő betegekben károsodik a brachialis erek endothel függő dilatációja (Panza, 1993 és Panza, 1995). Coronaria erekben Schwartzkopff és mtsai a fibrillaris collagen felhalmozódása miatt kialakuló struktúrális elváltozásokat írtak le, amellyek a coronaria erek csökkent dilatációs működéséhez vezettek magasvérnyomásban szenvedő, de negative coronarographiával rendelkező betegekben (Schwartzkopff, 1993). Csökkent coronaria áramlásirezerv kapacitást mértek magasvérnyomásos betegekben (Antony, 1993), amely elváltozás a manifest magasvérnyomás betegség kialakulása előtt az ún. prehipertóniás betegekben is kimutatható volt (Erdogan, 2007). Érdekesség, hogy Kozakova és mtsai a magasvérnyomásban megfigyelt csökkent coronaria áramlási rezerv kapacitás hátterében mind a csökkent coronaria tágulásiképesség mind az általuk mért

megnövekedett nyugalmi coronaria áramlást feltételezik (Kozakova, 1997). Vizsgálataikban ugyanis azt találták, hogy magasvérnyomás esetén a fokozott szívfrekvencia, balkamrai falfeszülés és hypertrofia miatt fokozza a nyugalmi coronaria áramlás (Kozakova, 1997). Azonban az, hogy a magasvérnyomásban megfigyelt coronaria áramlás csökkenéséhez/megváltozásához, milyen mértékben járulnak a coronaria mikroerek érfalban lokalizált, endothel-függő érátmérő szabályozásában szerepet játszó mechanizmusok egyáltalán nem ismertek.

A magasvérnyomás állatkísérletes modelljeiben korábban kimutatták hogy a vaszkuláris endothel által közvetített mechanizmusok károsodnak, melyek fontos szerepet játszanak a mikroerek vazomotor működéseinek elváltozásaiban (Koller, 1989, 1990). Koller és munkatársai azt találták, hogy az endothelből felszabaduló konstriktor prosztaglandinok fokozzák a spontán magasvérnyomásos patkányok (SHR) vázizom arterioláinak miogén tónusát (Huang, 1997). Továbbá, a kutatócsoport arról is beszámolt, hogy az SHR patkányok vázizom mikroereiben károsodik a NO közvetítette, áramlás-kiváltotta dilatáció (Koller, 1999). Ezen és más kutatások eredményei alapján úgy tűnik, hogy a magasvérnyomásban károsodik az endothel működése. A kóros endothel működés hátterében, számos egyéb kórállapothoz hasonlóan az oxidatív stressz kulcsszerepét feltételezik (Koller, 1994, Huang, 1998, Ungvari, 2003). A reaktív oxigén szabadgyök származékok hatással lehetnek az endothel működésére azáltal, hogy interferálnak az endothel-eredetű dilatátor anyagok, mint például a NO és prosztaglandin származékok szintézisével (Rubanyi, 1986, 1988, Kontos, 1990, Mugge, 1991, Omar, 1992). Azonban, hogy a humán magasvérnyomás betegségben, a coronaria mikroerek szintjén hogyan változnak meg az endothel és simaizom-által közvetített érátmérő szabályozásában szerepet játszó mechanizmusok nem kellően ismertek.

2.2.3. A diabetes mellitus és endothel diszfunkció

A diabeteses betegek legnagyobb hányadának mortalitását és morbiditását a Kardiiovaszkularis, elsősorban myocardialis szövődmények okozzák (Winer, 2004). A diabetes mellitus *coronaria nagyerekre* kifejtett hatásával – felgyorsult atherosclerosis, atherothrombosis – magyarázható a myocardialis infarktus emelkedett incidenciája. A nagy coronaria erek szintjén feltehetőleg az endothel kóros, megváltozott működése vezet az atherosclerosis gyors progrediációjához diabeteses betegeken. Az atheroscleroticus plakkokban is - csakúgy, mint az adventitiában - megfigyelhető a szöveti gyulladás. Macrophagok és T-lymphocyták akkumulálódnak, a lipid mag méretesebb, és a macrophagok és simaizom sejtek apoptosis hajlama fokozottabb, mint nem diabeteses állapotban. Mindezek a körülmények együtt eredményezik a plakk fokozott vulnerabilitását és thrombogenitását (Tedgui, 2004). A diabetesben megfigyelhető fokozott thrombosishajlam másik oka a megnövekedett szöveti faktor termelés, amelyről kimutatták, hogy arányban áll a plakk-macrophagok apoptosisának mértékével (Moreno, 2004). A teljes coagulációs kaszkád kórosan működik diabetesben, a thrombocyták reaktivitása is fokozott. Mind az adhaesivitásuk, aggregabilitásuk és thrombin produktivitásuk emelkedett (Stratmann, 2005). Korábbi vizsgálatok szerint az inzulin normál körülmények között gátolja a thrombocyta aggregációt azáltal, hogy fokozza a NO szintézisét a thrombocytákban (Kahn, 2004), a PGI₂ szintézisét az endothelben, növeli a PGI₂-receptorok számát a thrombocyták felszínén, és szöveti plazminogén aktivátort (thrombolytikus enzim) szabadít fel a vérlemezkékből (Chakraborty, 2004). Az inzulin által biztosított thrombocyta aggregáció gátlás csökkent mértéke ugyancsak magyarázhatja a diabetesben fokozott thrombosishajlamot.

Ismert, hogy a diabetes mellitus nemcsak a nagyerek szintjén, hanem a *mikorerekben* is kóros változásokat indukál. A diabeteses mikroérszövődmények állnak a nephropathia, neuropathia és retinopathia hátterében is. A szívet érintő diabeteses coronaria

mikroérkárosodás mechanizmusáról azonban még mindig keveset tudunk. Humán (Miura, 2003) és állatkísérletes (Bagi, 2003; Koltai, 1997) kutatások igazolták, hogy a mikroerek kóros intrinsic vazoregulatoricus működése már a betegség korai stádiumában is megfigyelhető. A szívizom perfúzió romlása a még intact coronaria keringés mellett is már kimutatható diabeteses betegekben (Nahser, 1995; Nitenberg, 1993).

Feltételezések szerint a microvaszkularis szövődmények közös kiindulópontja az *endothel diszfunkció* kialakulása. Az endothel rendkívül összetett, egymással párhuzamosan működő és kölcsönhatásban álló élettani folyamatainak megbomlott egyensúlya diabetes mellitusban az endothel kóros működéséhez vezethet (De Vriese, 2000). Az endothel diszfunkció többek között az értágító mechanizmusok csökkenéséhez, érszűkülethez, továbbá fokozott thrombosis-készséghez és az érfali simaizomsejtek proliferációjához vezethet. Az endothel diszfunkció korai stádiumában sérülnek a NO- és prosztaciklin-függő érelernyedési mechanizmusok, illetve emelkedhet egyes érszűkítő prosztaglandinok, endothelinek, angiotenzinek szintézise. A lokális szöveti faktorok aktiválódása és az endothel működési egyensúlyának megbomlása következtében nemcsak az endothel-függő dilatátor mechanizmusok sérülnek, hanem többek között a vérlemezkék, monocyták és egyéb sejtes elemek adhéziója is fokozódik, melyek jelenléte tovább károsíthatja az endothel amúgy is kóros működését. Korábbi vizsgálatok igazolták, hogy különböző érterületeken károsodik az endothel-függő arterioláris dilatáció diabetes mellitusban (De Vriese, 2000), melynek hátterében álló mechanizmusok felderítésére számos kísérletes megfigyelés történt. Ezek közül kiemelendő a diabetesben fennálló krónikus hyperglycemia kóroki szerepe. A hyperglycaemia és az endothel diszfunkció közvetlen összefüggését bizonyítják azok a megfigyelések, hogy a szoros vércukor kontroll csökkenti a mikroérrendszer elváltozásaiból adódó érrendszeri rizikófokozódást. Az endothel-függő vazodilatáció is normalizálódik hosszú távú inzulin therápia hatására. A glikált haemoglobin (Hb_{A1c}) szintje és a kóros

endothelműködés között korreláció mutatható ki (Rodriguez-Manas, 1998). Minden egyes százaléknyi csökkenés a Hb_{A1c} szintjében 37%-kal csökkenti a microvaszkularis szövődmények kockázatát (Stratton, 2000). Másik ilyen fontos patológiai elváltozás a *nem-enzimatis glikoziláció*. A glükóz a proteinek és lipidek szabad aminocsoportjához képes kötődni nem-enzimatis glikoziláció révén, így irreverzibilis előrehaladottan glikozilált végtermék (AGE, advanced glycosilation end product) jön létre, amely nem képes lebomlani, ezáltal felhalmozódik a szövetekben. A folyamat normál glükóz háztartás mellett is lejátszódik, de diabetesben a szubsztrát-fölösleg miatt fokozott mértékű (Baynes, 1999). Az AGE pathogenitása többek között abban áll, hogy keresztkötések létrehozására képes és az oxigén-eredetű szabadgyökök termelődését fokozza. Az AGE-produkció gátlójával, aminoguanidinnal a diabeteses érelváltozások gátolhatók voltak állatkísérletekben (Friedman, 1999).

A krónikus érfali gyulladás és COX-2 aktiváció lehetséges szerepe diabetes mellitusban

Ismert, hogy az egyes kardiovaszkularis megbetegedésekhez krónikus, alacsony szintű szöveti gyulladás társul. Az érfalban megfigyelhető gyulladásos választ nem lehet figyelmen kívül hagyni, ugyanis fontos szerepet tölt be a homeosztázis fenntartásában azáltal, hogy az érfal felépítésében és működésében változásokat indukál, így biztosítva a feltételeket a megváltozott körülményekhez való alkalmazkodáshoz (Libby, 2002). Az utóbbi időkben az alacsony szintű szöveti gyulladás, mint a diabeteses érszövődmények kulcsmechanizmusa lépett a vizsgálódások középpontjába (Helmersson, 2004).

A ciklooxygenáz (COX) enzimek jelentősége a krónikus gyulladásban megalapozottnak látszik. Sok egyéb faktor mellett a prosztaglandinok jelentős mediátorai a gyulladásos folyamatoknak, és az is ismert, hogy számos prosztaglandin származék fontos szerepet tölt be a vazoregulációban, ezen belül az arteriolák átmérőjének szabályozásában

(Koller, 1991). Újabb vizsgálatok szerint a prosztaglandin metabolizmus megváltozása diabetes mellitusban jelentős mértékben hozzájárul a lokális vazoregulatorikus mechanizmusok felborulásához. Korábban már kimutatták, hogy az 1-es típusú, inzulin dependens diabetes mellitusban (Basu, 2005), és a 2-es típusú, nem inzulin dependens diabetes mellitusban fennálló ciklooxygenáz- és citokin (főként interleukin-6)-mediált gyulladás jelenléte egyenes arányban áll az ún. glikémiás státusszal, azaz a Hb_{A1c} szintjével (Helmersson, 2004).

Emlős sejtekben az COX enzim két izoformáját ismerjük. A COX-1 konstitutív módon expresszálódik a legtöbb sejtben, így az endothel sejtekben is, ahol a cellularis homeosztázis fenntartásában – ezen keresztül az értónus szabályozásában – játszik szerepet (Davidge, 2001). Ezzel szemben a COX-2 izoforma normális körülmények között enyhe mértékben vagy egyáltalán nem kimutatható, de gyulladásos, mitogén és egyéb élettani hatásokra gyorsan felszaporodik (Parente, 2003).

Egy korábbi in vitro tanulmány szerint abban az esetben, amikor mind a COX-1, mind a COX-2 enzim kimutatható, a tényleges prosztaciklin szintézist a COX-2 izotípus végzi (Kulmacz, 1995). Feltételezések szerint a krónikus gyulladással járó diabetesben az érfali prosztaglandin szintézis megváltozása a módosult COX-2-expressziónak tudható be. Újabb vizsgálatok a diabetes állatkísérletes modelljeiben emelkedett COX-2 szintet és fokozott az agonista-indukált konstriktor prosztaglandin (TXA_2/PGH_2) termelést igazoltak az állatok aortáiban (Guo, 2005). A diabeteses állatok vázizom artérioláin a megemelkedett COX-2 aktivitás fokozott myogén tónusban nyilvánul meg, mely szintén a COX-2 eredetű TXA_2/PGH_2 hatásának tulajdonítható (Bagi, 2005). Ezek az állatkísérletek felvetették, hogy diabetesben mind a nagy-, mind a kiserek szintjén fokozott a COX-2 szintézise, és mind az aortában, mind a vázizom ereken a COX-2 enzim TXA_2/PGH_2 -on keresztül nagymértékben befolyásolja az erek vazomotor funkcióit. Azonban human diabetes mellitusban a coronaria

erek COX-2 expressziója, illetve a COX-2 expresszió következtében kialakuló funkcionális coronaria elváltozások teljes mértékben feltáratlanok.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy irodalmi adatok alapján feltételezhető, hogy a humán metabolikus szindrómában, annak fő kóroki összetevőinek, mint például az elhízás, magasvérnyomás, valamint diabetes mellitus hatására megváltozik a coronaria mikroerek vazomotor működése, azonban annak természete és a háttérben álló pontos mechanizmusok ma sem ismertek.

3. METODIKÁK

3.1. A betegek jellemzése

Kísérleteink során a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Etikai Bizottsága által jóváhagyott protokolloknak megfelelően jártunk el. Minden beteg írásbeli tájékoztatást kapott és írásbeli jóváhagyást adott a humán minta kísérletes felhasználásáról.

Vizsgálataink első részébe 38 szívsebészeti beavatkozáson átesett beteget vontunk be. A betegeket a dokumentáltan ismert magasvérnyomás betegsége megléte (HT) illetve annak hiánya (non-HT) alapján két csoportra osztottuk. További analízisek során mind a normotenzív mind hipertóniás betegcsoportokban, az elhízás mértéke alapján további alcsoportokat alkottunk (normal testsúly: testömeg index (BMI) < 25, valamint elhízás: BMI > 30). A betegek demográfiai adatait, a fennálló egyéb betegségeket, gyógyszereket valamint a szívsebészeti műtét típusát az alábbi táblázat tartalmazza (1. táblázat).

	non-HT (n=14)	HT (n=24)
Nem, férfi (%)	50.00	66.67
Kor	60±13	61±8
Szistolés vérnyomás (mmHg)	129±18	144±20
Diastolés vérnyomás (mmHg)	80±11	86±16
testömeg index (BMI)	27±4	28±4
Egyéb betegségek (%)		
Diabetes Mellitus	35.71	54.16
Hypercholesterolaemia	28.57	33.33
Coronaria artéria betegség	50.00	66.67
Korábbi miokardiális infarktus	28.57	29.17

Perifériás érbetegség	14.29	25.00
Gyógyszerek (%)		
β-blokkoló	92.86	83.33
ACE inhibitor	78.57	62.50
Diuretikum	71.43	37.50
Nitrát	42.86	70.83
Lipid csökkentő szer	57.14	75.00
Sebészi beavatkozás (%)		
Coronaria artéria bypass graft	35.71	70.83
Billentyű csere	50.00	50.00
Egyéb okok	14.29	4.16

Adatok: átlag±SD. non-HT – Normotóniás, HT – Hipertóniás betegek

1. táblázat

Más vizsgálatainkban a betegek külön csoportjában (25 beteg) az alapján osztottuk két csoportra, hogy anamnézisük és dokumentációjuk alapján fennállt-e a diabetes mellitus (DM+) vagy sem (DM-). A betegek demográfiai adatait, a fennálló egyéb betegségeket, főbb gyógyszereket valamint a szívsebészeti műtét típusát az alábbi táblázat tartalmazza (2. táblázat)

	DM(-)	DM(+)
	n=13	n=12
Nem, férfi (%)	53.85	41.67
Kor	60±14	59±8
Egyéb betegségek (%)		
Magasvérnyomás	69.23	91.67
Hypercholesterolaemia	46.15	41.67
Coronaria artéria betegség	23.08	66.67
Angina	23.08	58.33
Korábbi miokardiális infarktus	15.38	25.00

Perifériás érbetegség	0	25.00
Szívbillentyű betegség	84.62	41.67
Gyógyszerek (%)		
Aspirin	23.08	41.67
Lipid csökkentő szer	46.15	41.67
Inzulin	0	25.00
Orális antidiabetikum	0	41.67
ACE inhibitor	53.85	41.67
Diuretikum	61.54	58.33
Antikoaguláns	69.23	41.67
Calcium-csatorna blokkoló	30.77	16.67
Sebészi beavatkozás (%)		
Coronaria artéria bypass graft	15.38	66.67
Billentyű csere	84.62	41.67
Egyéb okok	7.69	8.33

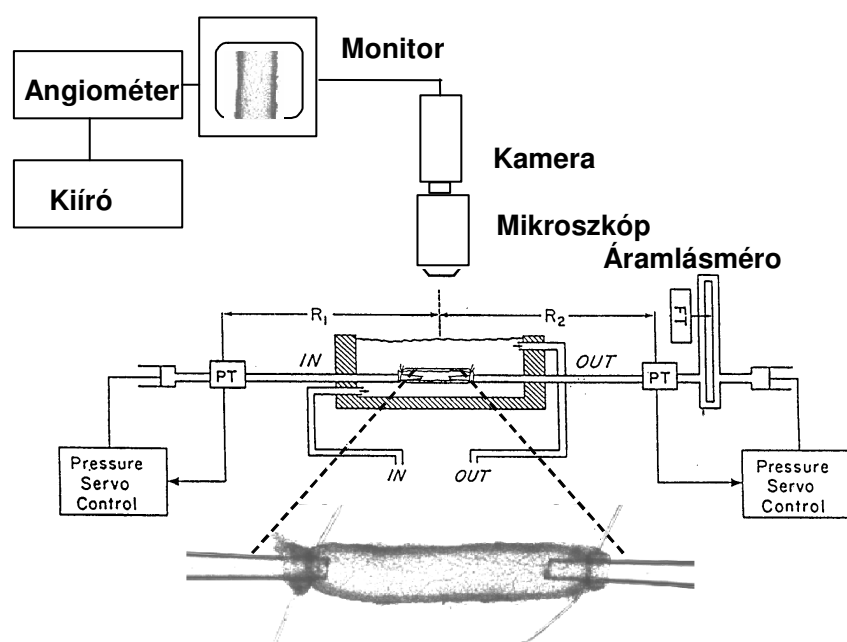
Adatok, átlag±SD. n a vizsgált betegek számát jelenti.

2. táblázat

3.2. Izolált humán coronaria mikroértechnika

Izolált mikroér kísérleteinket coronaria arteriolákon (~100 µm átmérő) végeztük. A coronaria arteriolákat coronaria bypass műtét vagy billentyűcsere során eltávolított jobb fülcsé darabból izoláltuk. A jobb fülcsét egy hideg (0-4°C, pH 7,4) Krebs-oldatot (110,0 mmol/L NaCl, 5,0 mmol/L KCl, 2,5 mmol/L CaCl₂, 1,0 mmol/L MgSO₄, 1,0 mmol/L KH₂PO₄, 5,5 mmol/L glükóz és 24,0 mmol/L NaHCO₃) tartalmazó szilikon alapú Petri-csészében tűkkel rögzítettük, majd sztereomikroszkóp (Nikon SMZ 600) segítségével, mikrosebészeti eszközökkel az elsőrendű coronaria arteriola 2-3 mm-es szakaszát izoláltuk. Az izolált arteriolát először egyik végén (ez lett a proximális vég) megkanulálva rögzítettük, majd 20 Hgmm-es perfúziós nyomással a lumenből a vérsejteket eltávolítottuk. Ezután az ér disztális végét is megkanuláltuk, és miután egy mikrocsonk segítségével beállítottuk az eredeti érhosszt, egy állandó hőmérsékletű (T=37°C, pH=7,4) szervfürdőbe helyeztük. A szervkamrát folyamatosan oxigenizált (O₂: 10%, CO₂: 5%, N₂: 85%) Krebs-oldattal áramoltattuk át (40

ml/min). Az intraluminális nyomást egy nyomás kontrolláló perisztaltikus pumpa (Living Systems Instrumentation, VT, USA) segítségével lassan 80 Hgmm-re emeltük és körülbelül 60 percig ott tartottuk, amíg az ér állapota stabilizálódott. Közben az intraluminális nyomást folyamatosan nyomástranszducerrel mértük. A felvételek egy mikroszkóphoz (Nikon, Eclipse 80i) rögzített digitális kamerával (CFW1310, Scion Corp, USA) készültek (1. ábra). Az izolált arteriola belső átmérőjét az Image J software-rel mértük (NIH Image, MD, USA).



1. ábra - Az izolált erek átmérőváltozásait mérő videomikroszkópos rendszer vázlatos képe.

3.3. A humán coronaria arteriolák működésének vizsgálata vazoaktív szerekkel

Az izolált coronaria arteriolán az egyórás inkubáció során spontán myogén tónus alakult ki a 80 Hgmm-es intraluminális nyomás hatására. Kísérleteinkben az izolált coronaria mikroerek válaszait ismert hatásmechanizmusú, endothel-függő és endothel-független vazoaktív farmakonokkal teszteltük. A protokollok során az alkalmazott vazoaktív anyagokat az ismert térfogatú (15 mL) perfundált kádba megfelelő végkoncentrációkban adtuk. Kumulatív koncentrációkat alkalmazva folyamatosan regisztráltuk az egyes szerek megfelelő koncentrációjának érátmérőre gyakorolt maximális hatását.

Az első kísérleti sorozatban az endothel-függő vazodilatátor, bradikinin (0,1 nmol/L – 1 μ mol/L), majd az endotheltől függetlenül, a simaizomsejteken közvetlen ható vazodilatátor, nátrium nitroprusszid (SNP; 0,1 nmol/L – 1 μ mol/L) hatására kialakuló átmérőváltozásokat mértük. Az egyes kumulatív dózis-hatás görbéket kimosási periódus és 30 perc inkubáció követte, melynek során az arteriolák visszanyerték kiindulási tónusukat.

Bizonyos protokollokban az agonista-kiváltotta (bradykinin, SNP) érválaszokat megfigyeltük a nem-szelektív COX-gátló, indomethacin (10 μ mol/L, 30 percig inkubálva) és a szelektív COX-2-gátló, NS-398 (10 μ mol/L, 30 percig inkubálva) jelenlétében is, mely eredményekből az agonista válaszok kialakításában szerepet játszó prosztaglandin metabolitok szerepére következtettünk.

3.4. Immunhisztokémia

Diabeteses betegeken végzett kísérletekben funkcionális vizsgálatainkat immunhisztokémia kísérletekkel is kiegészítettük. A nem diabeteses [DM(-), n=8] és a diabetes mellitusban szenvedő [DM(+), n=8] betegekől származó jobb fülcse darabokat ún. OCT anyagba (Tissue Tek, Electron Microscopy Sciences) ágyasztuk be, majd fagyasztottuk. Acetonos fixálás után 10 μ m vastagságú metszetek készültek, melyeket polyclonalis COX-2-ellenanyaggal (1:100 hígítás, Cayman Chemicals) jelöltünk. Az immunfestődést az avidin-biotin tormaperoxidáz rendszerben diaminobenzidin tetrahydrochlorid (DAB) festés segítségével tettük láthatóvá (Vectastain Kit, Vector Laboratories). Az immunfluoreszcens jelölést COX-2 és simaizom α -aktin elleni primer (Novocastra) és FITC (Vector Laboratories) vagy Texas Red (Jackson Immuno Research) jelölt szekunder antitesttel végeztük. Magfestésre DAPI-t használtunk. A nem specifikus kötődés kimutatására a elsődleges antitestet kihagytuk a kontroll protokollokban. A felvételeket Nikon Eclipse 80i típusú mikroszkóphoz csatolt digitális kamerával (CFW 1310C, Scion Scorp) készítettük.

3.5. Az eredmények statisztikai értékelése

Az érátmérő adatok a mért értékek átlagértékei $\pm$ SEM. A vazoaktív szerek hatására kialakuló átmérőváltozásokat a Ca^{2+} -mentes oldatban, 80 Hgmm-es intraluminális nyomáson megfigyelt passzív átmérő százalékában fejeztük ki. Az adatokat az NCSS statisztikai program segítségével értékeltük ki (Kaysville, Utah, USA). A statisztikai analízisek a különböző mért változók normal eloszlásának vizsgálata előzte meg a Kolmogorov-Smirnov teszt segítségével. A betegcsoportokban mért adatokat egy utas variancia analízissel vizsgáltuk (one way ANOVA), majd a statisztikailag fennálló különbségeket a Tukey-Kramer posthoc teszt elvégzésével állapítottuk meg. A Kolmogorov-Smirnov teszt alapján a mért változók normál elosztást mutattak, ezért a folytonos változók vizsgálatára a Pearson korrelációs tesztet alkalmaztuk. Bizonyos protokollokban a kategórikus változók vizsgálatára két utas ANOVA-t és azt követő Tukey-Kramer posthoc tesztet alkalmaztunk, ahol az egyik faktorként a kategórikus változó a másik faktorként a magasvérnyomás megléte vagy hiánya szerepelt. Azok a változók, amelyek szignifikáns korrelációt mutattak az univariancia analízisben, további tesztre kerültek a szignifikáns kovariánsra súlyozott többszörös regressziós modellben. Bizonyos esetekben a változók lineáris regressziós vizsgálatára is sor került, ahol a regressziós vonalak meredekségének összehasonlító vizsgálata is megtörtént. A szignifikancia határának minden esetben a $P < 0,05$ -t tekintettük.

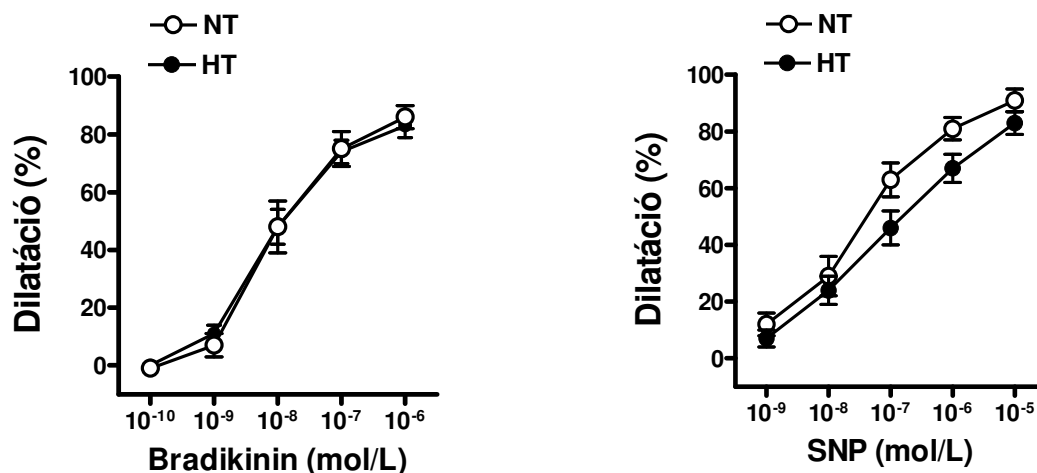
4. EREDMÉNYEK

4.1. A magasvérnyomás és elhízás hatása a coronaria arteriolák vazomotor működésére

A magasvérnyomás és elhízás coronaria erek vazomotor működésére gyakorolt hatását coronaria bypass vagy billentyűműtéten átesett betegekből ($N=38$) származó ereken vizsgáltuk. A betegek demográfiai mutatóit az 1. táblázatban foglaltuk össze. A betegeket normotenziós (NT, $N=14$) és hipertóniás (HT, $N=24$) alcsoportokba osztottuk a betegdokumentációs adatok alapján. A hipertóniás betegcsoportban az aktuális vérnyomásértékek magasabbak voltak, ami azonban nem érte el a statisztikai különbséget (1. táblázat). A két csoport között nem volt különbség a testtömegindex (BMI) mértékében, valamint nem találtunk eltérést a társbetegségek, gyógyszerek, műtétek típusa, a kor és nem tekintetében sem (1. táblázat).

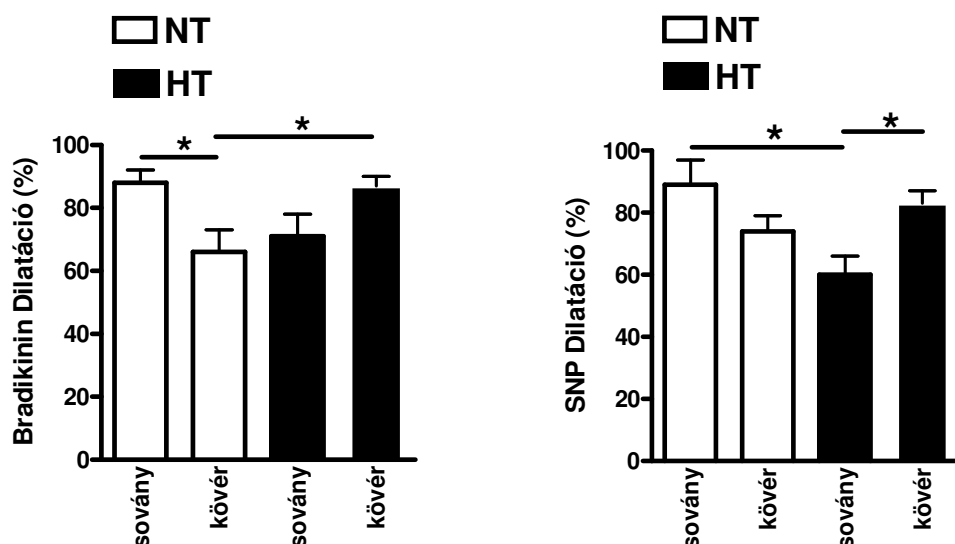
Az egyórás inkubáció során az izolált humán coronaria arteriolákon 80 Hgmm-es intraluminális nyomás hatására spontán myogén tónus alakult ki. Nem volt szignifikáns különbség a nem hipertóniás (NT) és hipertóniás (HT) betegekből izolált coronaria arteriolák között sem az aktív (NT: $92 \pm 9 \mu\text{m}$ vs. HT, $88 \pm 7 \mu\text{m}$, $P=0,256$), sem a passzív (a kalcium mentes Krebs-oldatban mérhető átmérő; NT: $139 \pm 11 \mu\text{m}$ vs. HT: $135 \pm 7 \mu\text{m}$, $P=0,624$) érátméreőkben.

Az endothel-függő vazodilatátor, bradikinin ($0,1 \text{ nmol/L}$ - $1 \mu\text{mol/L}$) és az NO-donor nitroprusszid nátrium (SNP, 1 nmol/L and $10 \mu\text{mol/L}$) adására az izolált coronaria arteriolák jelentős mértékű vazodilatációja alakult ki (2. ábra). Érdekes módon azt találtuk, hogy nem volt szignifikáns különbség a bradikinin-kiváltott és az SNP-indukált coronaria dilatáció mértékében a normotenzív és hipertóniás betegcsoportban (2 ábra).



2. ábra - A nem hipertóniás [NT, n=14] és hipertóniás [HT, n=24] betegekből izolált coronaria arterioláinak belső átmérő változásai bradikinin (bal oldal) és SNP (jobb oldal) kumulatív dózisának hatására. Az adatok a mért százalékos dilatációk átlagértékei $\pm$ SEM.

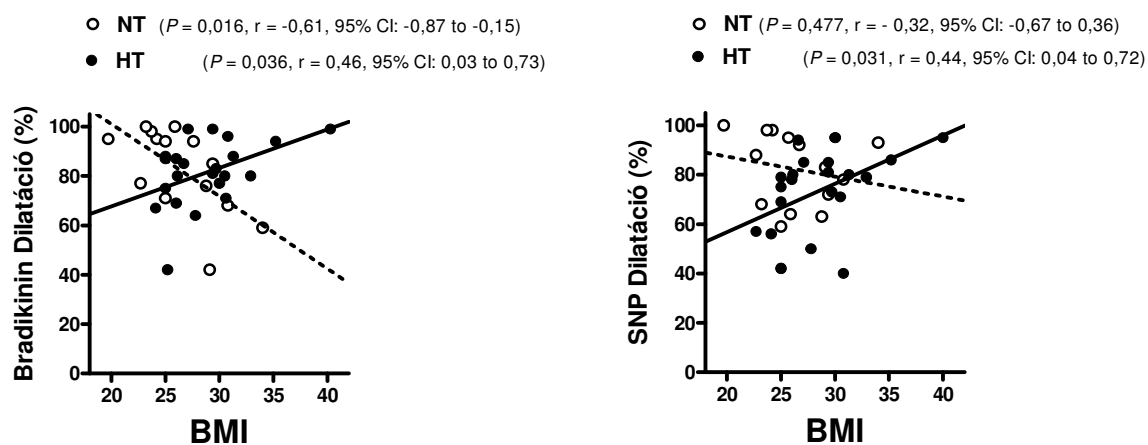
Amikor azonban a coronaria válaszokat elkülönítettük annak alapján, hogy az erek sovány (BMI<25) vagy kövér (BMI>30) betegekből származnak érdekes, nemvárt különbségekre derült fény a normotóniás és hipertóniás betegcsoportokban. A két utas ANOVA szerint a bradikinin-indukálta dilatáció szignifikánsan csökkent a kövér, normotóniás betegeken a sovány, normotóniás betegekhez ($P=0,013$), valamint a kövér, hipertóniás betegekhez ($P=0,025$) viszonyítva (3 ábra). Meg kell jegyezni, hogy az ANOVA szignifikáns interakciót is igazolt a magasvérnyomás és kövérség között ($P=0,001$). Ezekben a vizsgálatokban továbbá azt is találtuk, hogy az NO-donor, SNP-kiváltotta dilatáció mértéke szignifikánsan csökkent a sovány hipertóniás betegeken a sovány normotenziós ($P=0,017$) valamint érdekes módon a kövér, hipertóniás betegekhez ($P=0,021$) viszonyítva (3 ábra). Ebben az esetben az ANOVA lehetséges interakciót mutatott ($P=0,083$) a hipertónia és kövérség érműködésre gyakorolt hatása között.



3. ábra – A sovány és kövér nem hipertóniás [NT, n=14] valamint hipertóniás [HT, n=24] betegek alcsoportjaiból származó coronaria arterioláinak belső érátmérő változásai bradikinin (bal oldal) és SNP (jobb oldal) szubmaximális dózisának hatására. Az adatok a mért százalékos dilatációk átlagértékei $\pm$ SEM. A csillagok (*) szignifikáns (két utas ANOVA) különbséget jelölnek ($p < 0,05$).

Ezen, részben nemvárt eredményeink felvetették, hogy a kövér, hipertóniás betegekből származó coronaria mikroerekben az agonista szerek által kiváltott dilatáció mértéke inkább megnőtt, mintsem tovább csökkent volna, ahogy azt korábbi irodalmi adatok alapján feltételeztük. A jelenséget tovább vizsgálva Pearson korrelációval tanulmányoztuk a testtömegindex hatását a coronaria dilatáció mértékére a normotóniás és hipertóniás betegcsoportokban. Szignifikáns, pozitív korrelációt találtunk a bradikinin-kiváltotta dilatáció és BMI között a hipertóniás csoportban, míg negatív korrelációt a normotenzív betegeknél (4. ábra). Hasonlóan, pozitív korrelációt találtunk az NO donor, SNP-indukálta dilatáció és BMI között hipertóniás csoportban, míg nem volt ilyen jellegű összefüggés kimutatható a normotenzív betegeknél (4. ábra). A korrelációs vizsgálatokban szignifikáns különbségeket találtunk a normotóniás és hipertóniás betegek válaszait jellemző regressziós vonalak között

mind a bradikinin-kiváltotta ($P=0,008$), mind az SNP-indukálta ($P=0,041$) érdilatáció tekintetében.



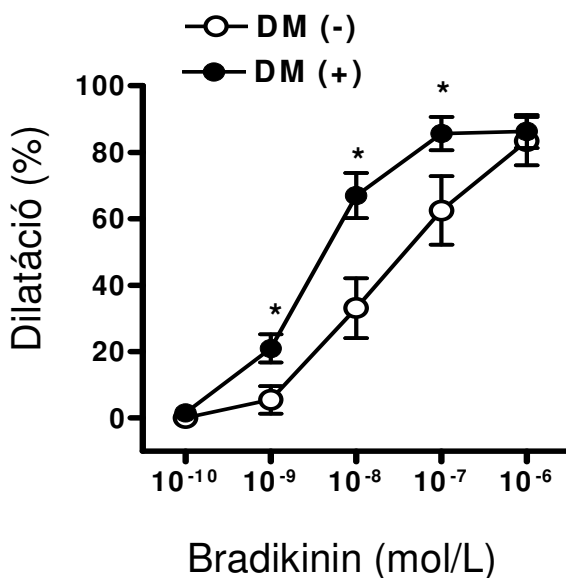
4. ábra – Pearson korrelációs analízis a bradikinin (bal oldal) és SNP-kiváltotta (jobb oldal) dilatáció és BMI között normotóniás (NT, $N=14$) és hipertóniás (HT, $N=24$) betegekben. Regressziós vonalak normotóniás (szaggatott) és hipertóniás (folytonos) csoportban. CI: konfidencia intervallum.

További statisztikai analízis során nem találtunk szignifikáns különbséget más független változó és a bradikinin-kiváltott dilatáció mértéke között (kor: $P=0,617$; férfi nem: $P=0,341$, diabetes mellitus: $P=0,496$, coronaria betegség: $P=0,809$, magas koleszterin szint: $P=0,418$, β -blokkoló: $P=0,477$, ACE-inhibitor: $P=0,269$, nitrát: $P=0,640$, diuretikum: $P=0,670$, lipid csökkentő gyógyszeres terápia: $P=0,444$). Valamint az NO donor, SNP-indukálta válaszok esetében sem volt szignifikáns különbség ebben a tekintetben (kor: $P=0,406$; férfi nem: $P=0,612$, diabetes mellitus: $P=0,147$, coronaria betegség: $P=0,793$, magas koleszterin szint: $P=0,340$, β -blokkoló: $P=0,516$, ACE-inhibitor: $P=0,934$, nitrát: $P=0,739$, diuretikum: $P=0,410$, lipidcsökkentő gyógyszeres terápia: $p=0,115$).

4.2. Diabetes mellitus hatása a coronaria arteriolák vazomotor működésére

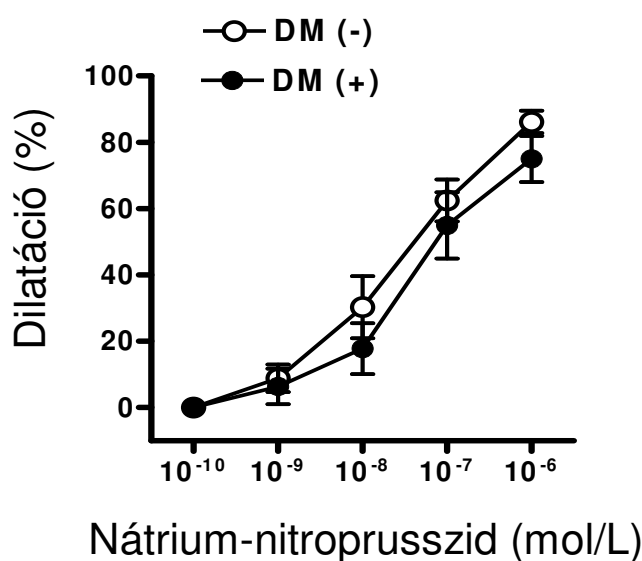
Az egyórás inkubáció során az izolált humán coronaria arteriolákon 80 Hgmm-es intraluminális nyomás hatására spontán myogén tónus alakult ki. Nem volt szignifikáns különbség a diabeteses [DM(+)] és nem diabeteses [DM(-)] betegekből izolált arteriolák között sem az aktív [AD, az egyórás inkubáció után kialakult átmérő; DM(-): 99 ± 28 , DM(+): 82 ± 9 μm], sem a passzív [PD, a kalcium mentes Krebs-oldatban mérhető átmérő; DM(-): 140 ± 23 , DM(+): 131 ± 8 μm] érátmérőkben, sem az ezek alapján kalkulált ([PD-AD/PD]*100) myogén tónusban [DM(-): 32 ± 7 , DM(+): 37 ± 5 %].

Elsőként az endothel-függő vazodilatátor, bradikinin kumulatív dózisait alkalmazva (BK; 0,1 nmol/L –1 $\mu\text{mol/L}$) a humán coronaria arteriolák dilatációja alakult ki mindkét csoportban, azonban szignifikánsan nagyobb mértékű volt a diabeteses betegek coronariáin, mint a diabetesben nem szenvedő betegekből izolált ereken (5. ábra).



5. ábra - A diabetes mellitusban szenvedő betegek [DM(+), $n=12$] és a nem diabeteses betegek [DM(-), $n=13$] izolált coronaria arterioláinak belső érátmérő változásai bradikinin kumulatív dózisének hatására. Az adatok a mért százalékos dilatációk átlagértékei $\pm$ SEM. A csillagok (*) szignifikáns különbséget jelölnek ($p<0,05$).

Az endotheltől független, direkt NO-donor, nátrium-nitroprusszid növekvő koncentrációjának (SNP; 0,1 nmol/L – 1 μ mol/L) hatására kialakult vazodilatáció mértéke vizsgálatainkban nem különbözött a két betegcsoport coronaria mikroerein. Ez az eredmény és a kezdetben kalkulált közel azonos myogén tónus a simaizom, megtartott reaktivitását mutatja a két ércsoportban (6. ábra).



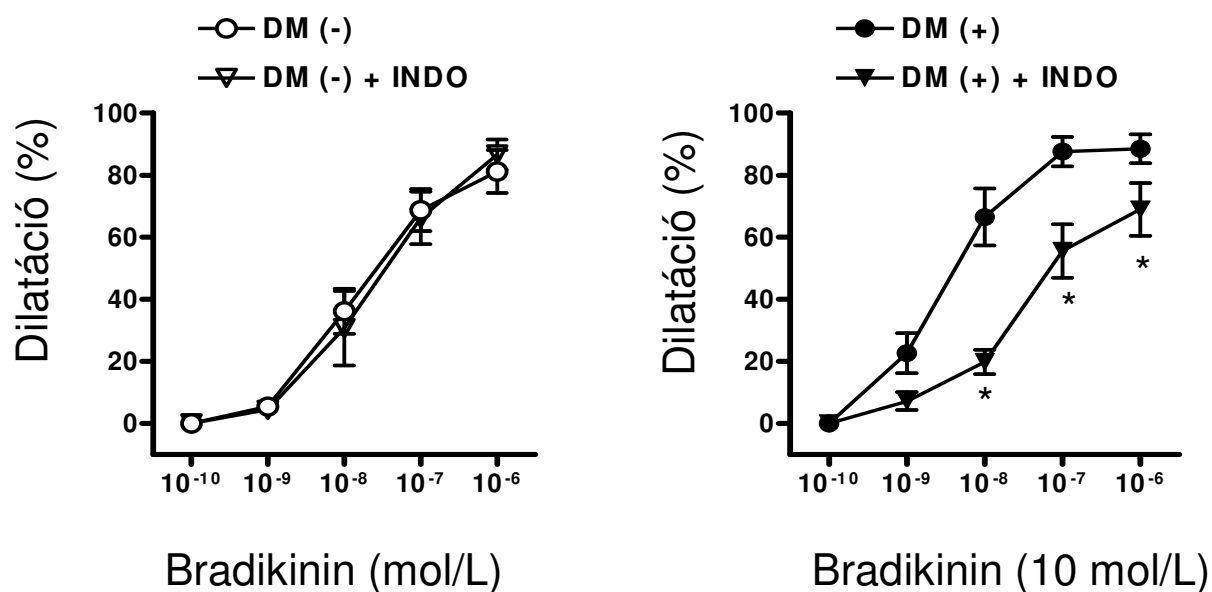
6. ábra - A diabetes mellitusban szenvedő betegek [DM(+), n=12] és a nem diabeteses betegek [DM(-), n=13] izolált coronaria arterioláinak belső érátmérő változásai SNP kumulatív dózisának hatására. Az adatok a mért százalékos dilatációk átlagértékei $\pm$ SEM. A csillagok (*) szignifikáns különbséget jelölnek ($p < 0,05$).

A vizsgálatokban bevont csoportokban nem volt szignifikáns különbség egyéb fennálló betegség, gyógyszeres kezelés és a műtét típusának vonatkozásában. Erdeményeink továbbá azt is mutatják, hogy a többszörös regressziós analízisben csak a diabetes mellitus jelenléte volt szignifikáns hatással a bradikinin-kiváltotta dilatáció nagyságára (3. táblázat).

Bradikinin Dilatáció (10^{-8} M)			
N=25			
	Coefficiens	SE	<i>P</i>
Diabetes mellitus	6,51	3,19	0,04*
Hipertónia	0,2	2,37	0,93
Coronara betegség	0,76	1,84	0,68
Magas koleszterin	-1,01	1,85	0,56
Miokardiális infarktus	2,14	2,35	0,36
Bíllentyű betegség	-2,72	2,11	0,20
Férfi nem	0,85	1,84	0,64
kor	-0,54	0,1	0,81

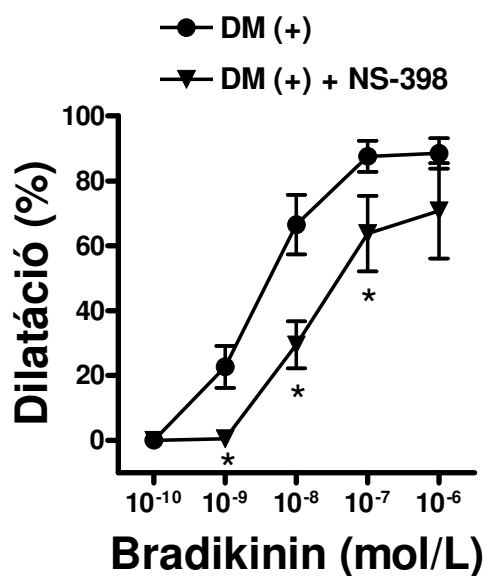
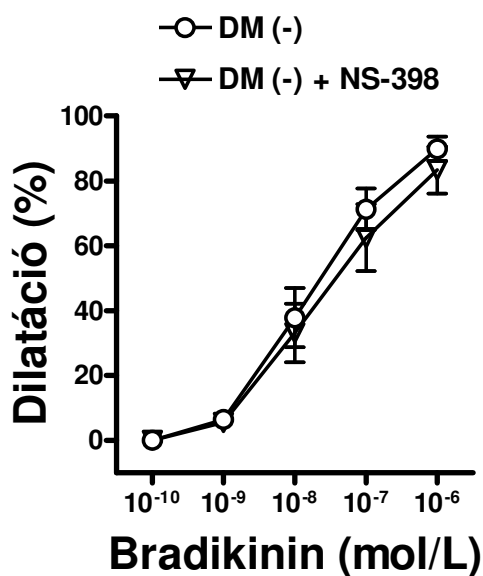
3. táblázat. Töbszörös regressziós analízis. SE: standard error. * $P < 0.05$

Az, hogy mi állhat a fokozott endothel-mediált válaszkészség hátterében, nem pontosan ismert. Ismert, hogy a nitrogén monoxid (NO) és az endothelialis hiperpolarizáló faktor (EDHF) mellett a bradikinin által kiváltott coronaria válaszok hátterében dilatátor természetű proszttaglandinok (prosztaciklinek) is szerepet kapnak. A továbbiakban ezen proszttaglandinok bradikinin-indukált dilatációban betöltött szerepét vizsgáltuk. Az előzőekben ismertetett kísérleteket elvégeztük a nem-szelektív COX-inhibitor, indomethacin ($10 \mu\text{mol/L}$, 30 percig) jelenlétében is. A nem diabeteses (DM-) csoportban a bradikinin-indukált dilatáció indomethacin hatására nem változott, míg a diabeteses betegekből (DM+) izolált coronaria arteriolákon a kiváltott dilatáció a kontroll szintre csökkent (7. ábra).



7. ábra - A diabetes mellitusban szenvedő betegek [DM(+), n=6] és a nem diabeteses betegek [DM(-), n=5] izolált coronaria arterioláinak belső érátmérő változásai bradikinin kumulatív dózisának hatására indomethacin kezelés (INDO, 10 μ mol/L, 30 percig) előtt és után. Az adatok a mért százalékos dilatációk átlagértékei $\pm$ SEM. A csillagok (*) szignifikáns különbséget jelölnek ($p < 0,05$).

Ismert, hogy a prosztaglandinok szintézisében mind a konstitutívan expresszáldó COX-1, mind az indukálható COX-2 izoforma szerepet játszhat. Mivel korábbi vizsgálatok szerint a diabetesben megfigyelt érfali gyulladás gyakran társul a COX-2 enzim upregulációjával, a továbbiakban a szelektív COX-2-gátló, NS-398 jelenlétében is (10 μ mol/L, 30 percig) vizsgáltuk a válaszokat. Míg a nem diabeteses betegek arterioláin a szelektív COX-2-gátló nem befolyásolta jelentősen a bradikinin-indukált érválaszokat, addig a diabetes mellitusban szenvedő betegek coronaria arterioláiban szignifikáns mértékben csökkentette azokat (8. ábra).

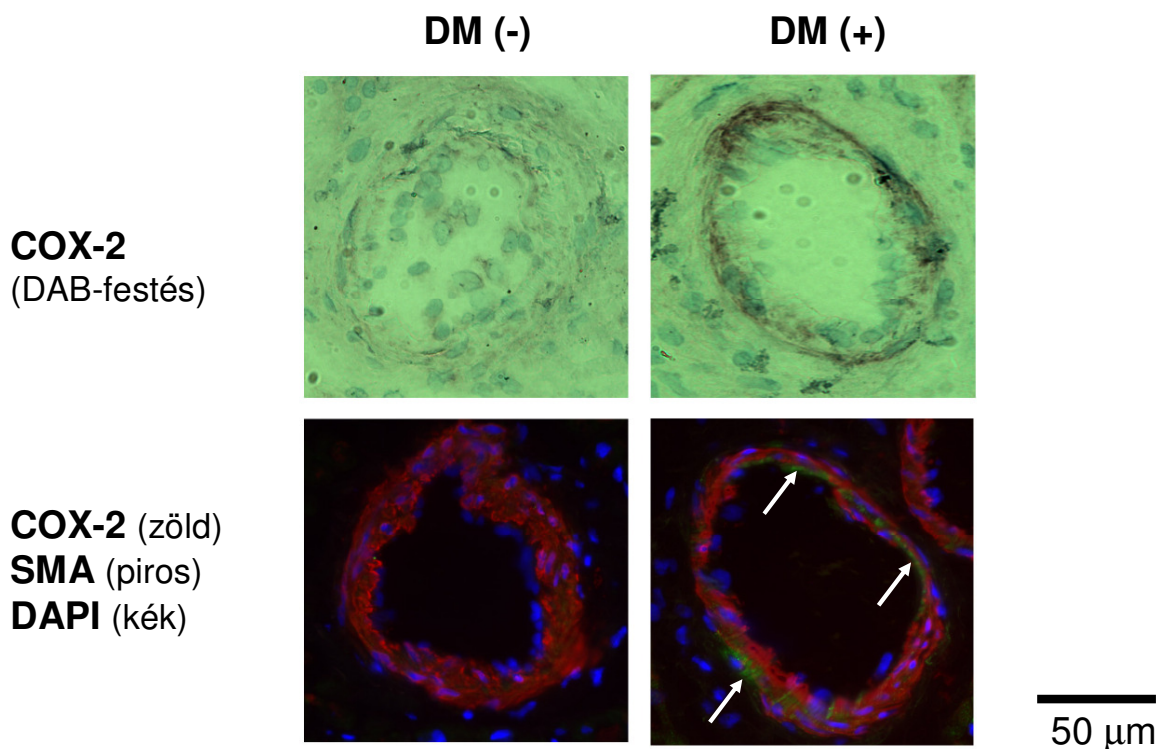


8. ábra - A diabetes mellitusban szenvedő betegek [DM(+), n=6] és a nem diabeteses betegek [DM(-), n=5] izolált coronaria arterioláinak belső érátmérő változásai bradikinin kumulatív dózisának hatására NS-398 kezelés (10 μ mol/L, 30 percig) előtt és után. Az adatok a mért százalékos dilatációk átlagértékei $\pm$ SEM. A csillagok (*) szignifikáns különbséget jelölnek ($p < 0,05$).

Egyik betegcsoport arterioláin sem befolyásolta a nátrium-nitroprusszid által kiváltott dilatáció mértékét az indomethacinnal vagy NS-398-cal végzett inkubáció [10^{-5} mol/L értéknél DM(-) indomethacin után: $88 \pm 6\%$, NS-398 után: $87 \pm 6\%$, DM(+) indomethacin után: $86 \pm 9\%$, NS-398 után: $82 \pm 10\%$]. A COX-inhibitorokkal történő előkezelés a mikroerek kiindulási belső átmérőjét nem befolyásolta jelentős mértékben [az arteriolaris átmérő indomethacin előtt és után: DM(-): 89 ± 9 és 94 ± 8 μ m, DM(+): 73 ± 6 és 81 ± 12 μ m, NS-398 előtt és után: DM(-): 87 ± 17 és 88 ± 6 μ m, DM(+): 82 ± 8 és 80 ± 5 μ m].

6.2. Immunhisztokémia

Az immunhisztokémiai vizsgálatok alapján a DM(-) betegek coronaria arterioláin nem volt számottevő COX-2 festődés kimutatható, a DM(+) betegekből izolált erek falában a festődés jelentősen fokozott volt mind az endothel, mind a simaizom rétegben (9. ábra).



9. ábra – A COX-2 immunhisztokémiai kimutatása diabeteses [DM(+), n=8, jobb oldal] és diabetes mellitusban nem szenvedő betegek [DM(-), n=8, bal oldal] coronaria arterioláin. A felső két panelen a COX-2 festést a diaminobenzidin tetrahydrochlorid (DAB) barna reakcióterméke mutatja. Az alsó két panelen a COX-2 (zöld) és a simaizom α -aktin (SMA, piros) együttes immunfluoreszcens festése látható. DAPI-t használtunk magfestésre (kék). A nyilak a zölddel jelölt COX-2-re mutatnak.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. Az elhízás és magasvérnyomás hatása a coronária mikroerek vazomotor működésére

Korábbi vizsgálatok szerint a kóros mértékű elhízás fokozza a coronaria betegségek kialakulásának rizikóját (Poirier,2006). Az obesitas coronaria vazomotor funkcióra gyakorolt hatása, különösen más betegségek, mint például a hypertonia együttes jelenlétében nem kellő mértékben ismert. Általános az egyetértés abban, hogy hypertoniában vaszkularis diszfunkció alakul ki, amely szintén szerepet játszik a fokozott kardiovaszkuláris rizikó kialakulásában (Palombo,2000). A vazomotor diszfunkciót elsődlegesen a csökkent endothel-dependens dilatáció jellemzi mind a nagy artériákban, mind a rezisztencia arteriolákban (Huang, 1996; Kolller, 2002; Palombo, 2002). Hypertóniásoknál már korábban kimutatták, hogy csökken a brachialis artéria hyperaemiás, ún. áramlás-mediálta relaxációja (FMD) (Ceravolo, 2003). Obesitasban a vaszkuláris diszfunkció korai kialakulása már szintén leírásra került (Jarvisaro, 2004; Hashimoto, 1998). Érdekes megfigyelés, hogy a nagy arteriosclerotikus rizikójú egyébként egészséges, kövér gyermekeknél már csökkent az FMD és nitroglycerin-indukálta brachialis artéria relaxáció (Jarvisalo, 2004). Mindezen klinikai megfigyelések alapján feltételezhető, hogy mind a kövérség, mind a hypertonia a nagy artériák kóros dilatációs működésével járnak együtt. Mivel korábbi vizsgálatok kimutatták, hogy a brachialis artéria, kóros körülmények között jelentkező funkcionális eltérései gyakran tükröződnek a coronaria artériák megváltozott vazomotor működésében (Anderson 1995; Takase,1998) feltételeztük, hogy a hypertonia és obesitas együttes előfordulása esetén a coronaria mikroerek vazomotor diszfunkciója súlyosabb formában jelentkezik. A coronaria mikroerek funkcionális elváltozásai hypertóniában és elhízásban nagyrészt feltáratlanok.

Jelen vizsgálatban ezért szív-műtéten átesett betegekből izolált coronária arteriolák vazomotor működésének vizsgálatát tűztam ki célul. Céлом volt, hogy feltárjam az elhízás és a magasvérnyomás hatásait a coronaria mikroerek vazomotor működésére. Továbbá,

vizsgáltam az elváltozások háttérében álló endothel- és simaizom sejtek által közvetített mechanizmusokat is.

Vizsgálataink során az izolált coronária arteriolákban nem találtunk különbséget az endothel-függő vazodilatátor, bradikininre és az NO-donor, nitroprusszid nátriumra adott dilatáció mértéke között normotenzív és hypertenziós betegek között. Mivel nem volt jelentős különbség a két csoport között az egyéb vizsgált paraméterek tekintetében, úgy tűnt, hogy a hypertonia önmagában nincs jelentős hatással a coronária arteriolák dilatációjára ebben a betegpopulációban. Ugyanakkor, amikor eredményeinket további alcsoport analízisnek tettük ki és a coronária dilatáció mértékét kövér és sovány betegeknél vetettük össze, jelentős különbség mutatkozott a normotenzív és a hypertóniás betegcsoport között. Azt találtuk, hogy normotenzív egyéneknél a kövérség az agonista-indukálta coronária dilatáció mértékének csökkenésével járt együtt (mind a bradikinin indukálta endothel dependens, mind a nitroprusszid nátrium kiváltotta endothelium független dilatáció esetében). Azt is megfigyeltük, hogy sovány hypertóniásoknál a coronária dilatáció mértéke csökkent. Ezen, coronaria ereken végzett vizsgálataink összecsengenek a korábbi, elsősorban nagyereken végzett kísérletes adatokkal azokat kiterjesztve igazolja, hogy mikroerek szintjén is a hypertonia (Ceravolo, 2003) és obesitas (Jarvisaro, 2004; Hashimoto, 1998) káros hatást fejt ki az erek vazomotor válaszára.

Azonban további vizsgálatinkban egy előre nem várt eredményt kaptunk, miszerint a hypertonia és obesitas együttes jelenlétében a coronária arteriola dilatáció (mind bradikinin és az NO-donor nitroprusszid nátrium hatására kialakuló) jelentősen fokozódott és a dilatáció mértéke szignifikáns, pozitív korrelációt mutatott a betegek testtömeg indexével (BMI-vel). Ezen nemvárt megfigyeléseink úgy gondoljuk, hogy magyarázhatják azt az eredményt miszerint a coronária dilatáció átlagolt adataiban nem volt különbség a normotenzív és hypertóniás betegcsoport között, amikor is a különböző testsúlyú betegek adatait átlagoltuk.

Megjegyzendő, hogy amikor az agonista-indukálta coronária dilatáció eltéréseit ANOVA-val vizsgáltuk, a hipertonia és obesitas közötti interakció szintén kimutatható volt. Ezen megfigyelés arra utal, hogy a hipertonia és az obesitas egymással összefüggve van hatással a coronaria mikroerek vazomotor funkciójára. Összességében jelen eredményeink azt sugallják, hogy hypertóniás betegeknél a túlsúly és az obesitas szoros összefüggésben van egy fokozott, esetleg adaptív artériolás dilatációval.

Az obesitas, hipertonia coronaria mikroerek vazomotor funkciójára gyakorolt hatásainak feltételezett mechanizmusa véleményünk szerint összetett lehet, annak pontos tisztázása további vizsgálatokat igényel. Ismert, hogy a bradykinin indukált coronária arteriola dilatáció részben az endothelből felszabaduló relaxációs faktoroktól, az NO felszabadulás mértékétől (Zhang, 1997), míg a nitroprusszid natrium-indukálta dilatáció részben a vaszkuláris simaizom NO érzékenységtől függ (Kuga, 1997, Lind, 2000). Mivel mind az endothel-dependens, mind a független coronária arteriola dilatáció fokozódott elhízott, hypertóniás betegeknél, valószínű, hogy elsődlegesen a vaszkuláris simaizom fokozott NO érzékenysége felelős az általunk észlelt jelenségért. Mindazonáltal az endotheliális kompenzatórikus mechanizmusának érintettsége nem zárható ki teljesen vizsgálataink alapján. Érdekes módon új állatkísérletes vizsgálatokban is azt találták, hogy elhízásban a coronaria mikroerek vazomotor funkciója megtartott vagy éppen fokozott mértékű is lehet (Henderson, 2004, Prakash, 2006). Ezzel kapcsolatos az a mostani klinikai megfigyelés is, miszerint az extrém kövér betegeknél a gyors testsúly csökkentés a NO szintézis csökkenésével jár együtt (Lin, 2007). Ezen vizsgálatok, összhangban az általunk megfigyelt eredményekkel azt erősítik, hogy bizonyos kórállapotokban a kövérség adaptív vaszkuláris mechanizmusokat képes aktiválni, megtartva vagy javítva ezzel az artériák vazodilatációs funkcióját.

Az általunk megfigyelt coronaria funkcionális eltérések élettani, kórélettani és klinikai jelentősége nem pontosan tisztázott. Az esszenciális hypertóniára jellemző a teljes peripheriás

vaszkuláris ellenállás fokozódása. (Lavie, 1986) Tény, hogy a testtömeg növekedésével (legyen az akár muszkuláris típusú vagy zsírszövet jellegű testtömeg gyarapodás), a perctérfogat növekedése kell, hogy társuljon fokozott intravaszkuláris térfogattal, hogy a keringés megfeleljen a fokozott metabolikus igényeknek (Lavie, 1986). A coronaria arteriolák megnövekedett dilatációs képessége a fokozott coronária áramlást és metabolizmust tükrözheti a hypertonia és obesitas korai ún. hiperdinámiás keringéssel járó szakaszában. További, érdekes korábbi megfigyelés, hogy a kövérség hypertoniás betegnél csökkenti a hypertonia célszerv károsodásait (Barrett-Connor 1985)

Összefoglalva vizsgálataink első részét elmondhatjuk, hogy szoros összefüggést mutattunk ki a kövérség és a coronária microvaszkulatura vazodilatációs képessége között hypertoniás betegeknél. Feltételezzük, hogy az elhízás és hypertonia vaszkuláris mechanizmusokat aktiválhat a coronaria mikroerekben, ami egy adaptációs válasz lehet obesitas és hypertonia együttes jelenléte esetén, és ami óvatosságot igényel ezen betegcsoportok érműködéseinek vizsgálatakor.

5. 2. Diabetes mellitus hatása a coronária mikroerek vazomotor működésére

Bár a klinikai tapasztalat egyértelműen azt mutatja, hogy diabetes mellitusban a mortalitás és morbiditás jelentős hányadáért a coronaria betegség kialakulása tehető felelőssé, a háttérben húzódó mechanizmusok még mindig nem teljesen tisztázottak. Még kevesebb ismeretünk van a rezisztencia erek szintjén játszódó változásokról. Korábban azt feltételezték, hogy a diabetesben csökkent coronaria áramlás fő oka a nagyerek atherosclerosis. Nitenberg és mtsai bebizonyították, hogy diabetesben a coronaria áramlási rezervkapacitás csökkenése már azelőtt igazolható, mielőtt még az angiographián, vagy a bal kamra systolés funkciójában valami kóros változás megjelenne (Nitenberg, 1993). Mindezek alapján feltételezték, hogy a diabetesben látható coronaria áramlásirezerv csökkenésért nem az epicardialis erek

atherosclerosis tehető felelőssé, hanem a coronaria microvaszkulatura csökkent dilatátor kapacitása (Nahser, 1995; Nitenberg, 1993). Az érfal-függő vazoregulátor mechanizmusok megváltozását a diabetes állatkísérletes modelljeiben már korábban kimutatták: bizonyítottan csökkent az áramlás (Bagi, 2003) és agonista (Koltai, 1997) által kiváltott, endothel-függő dilatáció. A nagy konduktancia artériák szintjén az endothel-függő vazodilatáció csökkent volta már a humán diabeteses mintákban is kimutatott (De Vriese, 2000). Azonban a diabetes mellitus kiserekre, főként a humán coronaria arteriolákra kifejtett hatásáról keveset tudunk még.

Diabeteses betegekből izolált coronaria arteriolákon Miura és mtsai azt tapasztalták, hogy a hypoxia által kiváltott dilatáció csökkent, feltételezéseik szerint az ATP-függő K^+ -csatorna kóros működése miatt (Miura, 2003). Kísérleteikben a nitrogén monoxid (NO) szintáz és COX-inhibitor egyidejű jelenlétekor a bradikinin által kiváltott endothel eredetű hiperpolarizáló faktor (EDHF)-mediált dilatáció megtartott volt a diabeteses coronaria arteriolákon. Ismert, hogy a NO és EDHF mellett prosztaglandinok (mint pl.: prosztaciklin) is részt vesznek a bradikinin által indukált coronaria válaszokban. A bradikinin által kiváltott prosztaciklin felszabadulás különösen fontos abban az esetben, amikor az egyéb vazodilatátor útvonalak (pl.: a NO-mediált) gátoltak. Jól ismert a prosztaglandinok szerepe a vaszkularis homeosztázis fenntartásában is: gátolják a thrombocytá aggregációt, a proliferációt és vasodilatátor hatásúak (Iglarz, 2003). Mind állati, mind humán ereken a prosztaciklin fő forrása a COX-2 (McAdam, 1999). Így olyan kóros körülmények között, amikor a COX-2 expresszió jelentősen megemelkedett, a fokozott prosztaciklin szintézis is jelentőséggel bírhat (Baker, 1999; Guo, 2005). Nemrég diabeteses egerekben kimutatták, hogy a jelentősen megnövekedett COX-2 expresszió is hozzájárul a bradikinin által kiváltott coronaria arteriola válasz megváltozásához (Bagi, 2005). Ezek alapján feltételezhető, hogy diabetesben a humán coronaria arteriolákon is fokozott a COX-2 expresszió, ami befolyásolhatja a prosztaglandin-

mediált válaszokat. Kísérleteinkben azt tapasztaltuk, hogy a diabeteses betegekből izolált coronaria arteriolákon a bradikinin által indukált dilatáció mértéke fokozott, mégpedig feltételezhetően a megemelkedett ciklooxygenáz-2 (COX-2)-mediált dilatátor prosztaglandin termelés következtében. Kísérleteinkben a prosztaglandin szintézis farmakológiai inhibitorait használva vizsgáltuk izolált humán coronaria arteriolákon a prosztaglandinok bradikinin-mediált vazodilatációban betöltött szerepét. Azt találtuk, hogy a nem-szelektív COX-inhibitor, indomethacin a nem diabeteses csoportban nem befolyásolta jelentős mértékben a bradikinin által kiváltott vazodilatációt, míg a diabeteses betegekből származó arteriolákon szignifikánsan csökkentette a bradikininre adott válaszokat. Ezzel párhuzamosan, a COX-2 szelektív gátlása (NS-398) szintén csak a diabeteses csoportban csökkentette a dilatáció mértékét, a kontroll csoportban nem befolyásolta a kiváltott válaszokat. Miután a szelektív gátlóval elért hatás megegyezett az indomethacin által kiváltott hatással feltételeztük, hogy diabeteses betegek coronariáin a bradikinin által felszabadított prosztaglandinok főként COX-2 eredetűek. A funkcionális kísérleteinket immunhisztokémiai vizsgálatokkal egészítettük ki, hogy a COX-2 arteriolaris expresszójában létrejövő változásokat detektáljuk. A nem diabeteses betegek arterioláival ellentétben a diabeteses coronaria arteriolákon fokozott COX-2 immunfestődés volt kimutatható mind az endothel, mind a simaizom rétegben. Ezek a megfigyelések egybevágnak a korábban a diabetes állatkísérletes modelljén tapasztaltakkal (Bagi, 2005). Eredményeink azt mutatják, hogy a diabeteses betegek coronaria arterioláin is a fokozott COX-2 expresszió tehető felelőssé a dilatátor prosztaglandinok (főként prosztaciklin) emelkedett mértékű szintéziséért, felszabadításáért.

A diabetes mellitusos betegek coronaria ereiben kimutatott fokozott COX-2 expresszió kórélettani szerepe és a háttérben húzódó mechanizmusok még nem tisztázottak. Az emelkedett COX-2 szint háttérben korábban a diabetes pathogenezisében szerepet játszó oxidatív stressz szerepe merült fel, mint kóroki tényező (Helmersson, 2004). Mind a diabetes

állatkísérletes modelljeiben (Bagi, 2003), mind humán mintákban a coronaria arteriolákon fokozott mértékű szuperoxid termelés mutatható ki. Humán endothel sejtenyészeten az emelkedett glükóz szint fokozott TXA₂ produkcióhoz vezetett, mely a COX-2 emelkedett szintjével volt arányban (Cosentino, 2003). Feltételezések szerint diabetesben az érfali fokozott reaktív oxigéngyök (pl.: szuperoxid anion) termelés redox-szenzitív jelátvivő utakon és transzkripciós mechanizmusok aktivációján keresztül vezet a fokozott COX-2 expresszióhoz (Kunsch, 1999). Gyulladás-keltő citokinek, mint az interleukin-1 α/β és tumor necrosis faktor- α fokozzák a COX-2 expressziót a COX-2-mRNS stabilizálásával és nuclearis faktor (NF)- κ B és peroxiszóma proliferátor aktivált receptor- γ (PPAR γ) mediált transzkripciójával (Pontsler, 2002). A COX-2 gén promotor régiójában PPAR γ -kötőhelyet azonosítottak humán endothel sejtekben (Meade, 1999). A PPAR γ pontos szerepe a vaszkularis prosztanoid szintézis befolyásolásában még tisztázásra vár diabetes mellitusban. A megnövekedett szuperoxid szint és COX-2-mediált proszttaglandin szintézis közötti hiányzó láncszem lehet a PPAR γ .

Diabetes mellitusban számos kóros folyamat következtében vaszkularis diszfunkció alakulhat ki, ami végső soron a szöveti véráramlás károsodásában és az erek patológiás morfológiai elváltozásaiban nyilvánul meg. Újabban felmerült az a hipotézis, hogy az emelkedett érfali COX-2 szint és szövetspecifikus proszttaglandin termelés lehet a felelős a vaszkularis funkció és egyensúly fenntartásáért bizonyos patológiás körülmények között (Grosser, 2006). A feltételezések szerint a diabetes mellitus kialakulásával egyidejűleg a csökkent érfunkciót kompenzáló mechanizmusok lépnek fel. Egyes kóros állapotokban kimutatták, hogy a NO-mediált dilatáció kiesésével párhuzamosan fokozódik az EDHF-mediált útvonal szerepe (Gutterman, 2005). Az atheroscleroticus plakkok felszínén emellett a fokozott COX-2 enzimaktivitás és következményesen emelkedett prosztaciklin termelés szerepet játszhat a vérlemezkék aggregációjának és a thrombusképződésnek a gátlásában

(Baker, 1999). Az atherosclerosis állatkísérletes modelljeiben pedig felvetődött a COX-2 eredetű prosztaglandinok szerepe az áramlás kiváltotta érfali átépülésben. Továbbá az is ismert, hogy a dilatátor prosztaglandinok jelentős szerepet töltenek be a bradikinin (a coronariaáramlást befolyásoló egyik fontos mediátor) által kiváltott vazodilatációban (Groves, 1995). Ezen korábbi ismeretekkel vizsgálati eredményeinket összevetve feltételezhető, hogy az emelkedett COX-2 szint és bradikinin által kiváltott dilatátor prosztaglandin termelés hivatott diabetes mellitusban a szívizom vérellátását biztosítani a microcirculatio romlása ellenére, ezzel megelőzve a végzetes kardiovaszkularis szövődményeket. Ugyanakkor kísérleti eredményeink felvetik azt a hipotézist is, hogy a COX-2 farmakológiai gátlása interferálhat ezen adaptív mechanizmussal, károsítva a coronaria mikrokeringést kifejezetten a diabeteses populációban.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A metabolikus szindróma multifaktorilális eredetű és feltehetőleg az azt jellemző fő kórállapotok, mint például a kóros mértékű elhízás, magasvérnyomás és diabetes mellitus együttesen hatással van az kardiovaszkuláris rendszer működésére. Az hogy az egyes, kórállapotok hogyan változtatják meg a coronária erek vazomotor működését még nem kellően ismert. Tudományos kutatásaimban ezért célul tűztem ki, hogy vizsgáljam a szívsebészeti műtéten átesett betegekből származó, izolált coronaria mikroerek vazomotor működését és hogy feltárjam az elhízás, magasvérnyomás és diabetes mellitus coronaria mikroerek vazomotor működésére gyakorolt hatásait. Vizsgálataink során az alábbi új megállapításokat tettem: 1) a normál vérnyomással jellemzett állapotban az izolált coronaria erek működése károsodik az elhízott betegekben, azonban 2) a hypertóniás betegekből izolált coronaria arteriolák agonista szerek hatására kialakuló vazodilatációja elhízott betegekben fokozódik, a normál testömegű betegekhez viszonyítva. Ezek alapján feltételezem, hogy a coronária arteriolák fontos adaptációs képessége alakul ki hypertonia és elhízás együttes előfordulása esetén. Kísérleteinkben más részében azt találtam, hogy 3) a diabetes mellitusban szenvedő betegek izolált coronaria arterioláiban a bradikinin fokozott dilatációt okoz a nem diabeteses betegekhez viszonyítva, aminek a hátterében a coronaria arteriolák fokozott ciklooxygenáz-2 expressziója és dilatátor prosztaglandin termelése áll.

Tudományos eredményeim szerint metabolikus szindrómában az egyes kórállapotok, mint a magasvérnyomás, elhízás és 2-es típusú diabetes mellitus eltérően hatnak a coronaria mikroerek vazomotor működésére. Annak ellenére, hogy a kórállapotok jelenléte minden bizonnyal károsítja a mikroerek működését, számolnunk kell olyan adaptív mechanizmusok jelenlétével is, amelyek szerepet játszanak a szív kóros körülményekhez alkalmazkodó mikrokeringésének fenntartásában.

7. IRODALOMJEGYZÉK

Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, Lieberman EH, Ganz P, Creager MA, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *Journal of the American College of Cardiology*. 1995;26:1235-1241

Aaronson PI, Ward JPT, Wiener ChM, Schulman SP, Gill JS (2000) Rövid kardiológia. B+V Lap- és Könyvkiadó Kft. 54-55.

Antony I, Nitenberg A, Foulst JM, Aptekar E. Coronary vasodilator reserve in untreated and treated hypertensive patients with and without left ventricular hypertrophy. *J Am Coll Cardiol*. 1993; 22: 514–520.

Bagi Z, Koller A, Kaley G (2003) Superoxide-NO interaction decreases flow- and agonist-induced dilation of coronary arterioles in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Heart Circ Pysiol* 285, H1404-H1410.

Bagi Z, Erdei N, Toth A, Li W, Hintze TH, Koller A, Kaley G (2005) Type 2 diabetic mice have increased arteriolar tone and blood pressure: enhanced release of COX-2-derived constrictor prostaglandins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 25, 1610-1616.

Baker CSR, Hall RJC, Evans TJ, Pomerance A, Maclof J, Creminon C, YacoubMH, Polak JM (1999) Cyclooxygenase-2 is widely expressed in atherosclerotic lesions affecting native

and transplanted human coronary arteries and colocalizes with inducible nirtic oxide synthase and nitrotyrosine particularly in macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19, 646-655.

Basu S, Larsson A, Vessby J, Vessby B, Berne C (2005) Type 1 diabetes is associated with increased cyclooxygenase- and cytokine-mediated inflammation. *Diabetes Care* 28, 1371-1375.

Bayliss WM (1902) On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J Physiol (Lond)* 28, 220-230.

Barrett-Connor E, Khaw KT. Is hypertension more benign when associated with obesity? *Circulation*. 1985;72:53-60.

Baynes JW, Thorpe SR (1999) Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 48, 1-9.

Brayden JE, Nelson MT (1992) Regulation of arterial tone by activation of calcium-dependent potassium channels. *Science* 256, 532–535.

Brownlee M (2001) Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature (London)* 414, 813–820.

Cameron NE, Cotter MA (1992) Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway. *Diabetologia* 35, 1011-1019.

Brush JE, Cannon RO III, Schenke WH, Bonow RO, Leon MB, Maron BJ, Epstein SE. Angina due to microvascular disease in hypertensive patients without left ventricular hypertrophy. *N Eng J Med*. 1988; 319: 1302–1307.

Ceravolo R, Maio R, Pujia A, Sciacqua A, Ventura G, Costa MC, Sesti G, Perticone F. Pulse pressure and endothelial dysfunction in never-treated hypertensive patients. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;41:1753-1758.

Chakraborty K, Sinha AK (2004) The role of insulin as an antithrombotic humoral factor. *Bioessays* 26 (1), 91-8.

Cosentino F, Eto M, De Paolis P, van der Loo B, Bachschmid M, Ullrich V, Kouroedov A, Delli Gatti C, Joch H, Volpe M, Luscher TF (2003) High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species. *Circulation* 107, 1017-1023.

Davidge ST (2001) Prostaglandin H synthase and vascular function. *Circ Res* 89, 650-660.

Davies PF (1995) Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiol Rev* 75, 519–560.

Davis MJ, Donovitz JA, Hood JD (1992) Stretch-activated single-channel and whole-cell currents in vascular smooth muscles. *Am J Physiol* 262 (4 Pt 1), C1083–C1088.

De Vriese AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM (2000) Endothelial dysfunction in diabetes. *Br J Pharmacol* 130, 963-974.

Duncker DJ, van Zon NS, Ishibashi Y, Bache RJ (1996) Role of K^+_{ATP} channels and adenosine in the regulation of coronary blood flow during exercise with normal and restricted coronary blood flow. *J Clin Invest* 97, 996–1009.

Erdogan D, Yildirim I, Ciftci O, Ozer I, Caliskan M, Gullu H, Muderrisoglu H. Effects of normal blood pressure, prehypertension, and hypertension on coronary microvascular function. *Circulation*. 2007 Feb 6;115(5):593-9.

Feigl EO (1983) Coronary physiology. *Physiol Rev* 63, 1–205.

Folkow B. "Structural factor" in primary and secondary hypertension. *Hypertension*. 1990;16:89-101.

Fox CS, Coady S, Sorlie PD (2004) Trends in cardiovascular complications of diabetes. *JAMA, J. Am Med Assoc* 292, 2495-2499.

Friedman EA (1999) Advanced glycosylated end products and hyperglycemia in the pathogenesis of diabetic complications. *Diabetes Care* 22 (Suppl 2), B65-B71.

Gabbay KH (1973) The sorbitol pathway and the complications of diabetes. *N Engl J Med* 288, 831-836.

Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G (1996) Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19, 257-267.

Gorman MV, Sparks HV Jr (1995) Control of the coronary circulation. Physiology and pathophysiology of the heart (3rd ed.) edited by Sperelakis N. Boston, MA: Kluwer Academic. P 1087-1107.

Greene AS, Tonellato PJ, Lui J, Lombard JH, Cowley AW, Jr. Microvascular rarefaction and tissue vascular resistance in hypertension. Am J Physiol. 1989;256:H126-31.

Grosser T, Fries S, FitzGerald GA (2006) Biological basis for the cardiovascular consequences of COX-2 inhibition: therapeutic challenges and opportunities. J Clin Invest 116, 4-15.

Groves P, Kurz S, Just H, Drexler H (1995) Role of endogenous bradykinin in human coronary vasomotor control. Circulation 92, 3424-3430.

Guo Z, Su W, Allen S, Pang H, Daugherty A, Smart E, Gong MC (2005) COX-2 upregulation and vascular smooth muscle contractile hyperreactivity in spontaneous diabetic db/db mice. Cardiovasc Res 67, 723-735.

Gutterman DD, Miura H, Liu Y (2005) Redox modulation of vascular tone: focus of potassium channel mechanisms of dilation. Arterioscler Thromb Vasc Biol 25, 671-678.

Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M (1998) Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. The New England Journal Of Medicine 339, 229-234.

Haffner S, Taegtmeyer H. Epidemic Obesity and the Metabolic Syndrome. *Circulation*. 2003;108:1541-1545

Hashimoto M, Akishita M, Eto M, Kozaki K, Ako J, Sugimoto N, Yoshizumi M, Toba K, Ouchi Y. The impairment of flow-mediated vasodilatation in obese men with visceral fat accumulation. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1998;22:477-484.

Heistad DD, Lopez JA, Baumbach GL. Hemodynamic determinants of vascular changes in hypertension and atherosclerosis. *Hypertension*. 1991;17:III7-11.

Helmersson J, Vessby B, Larsson A, Basu S (2004) Association of type 2 diabetes with cyclooxygenase-mediated inflammation and oxidative stress in an elderly population. *Circulation* 109, 1729-1734.

Henderson KK, Turk JR, Rush JW, Laughlin MH. Endothelial function in coronary arterioles from pigs with early-stage coronary disease induced by high-fat, high-cholesterol diet: effect of exercise. *J Appl Physiol*. 2004;97:1159-1168.

Huang A, Koller A. Both nitric oxide and prostaglandin-mediated responses are impaired in skeletal muscle arterioles of hypertensive rats. *J Hypertens*. 1996;14:887-95.

Huang A, Koller A. Endothelin and prostaglandin H2 enhance arteriolar myogenic tone in hypertension. *Hypertension*. 1997;30:1210-5.

Huang A, Sun D, Kaley G, Koller A. Superoxide released to high intra-arteriolar pressure reduces nitric oxide-mediated shear stress- and agonist-induced dilations. *Circ Res.* 1998;83:960-5.

Hutchins PM, Darnell MS. Observation of a decreased number of small arterioles in spontaneously hypertensive rats. *Circ Res.* 1974;35:161-165.

Iglarz M, Schiffrin EL (2003) Role of endothelin-1 in hypertension. *Curr Hypertens Rep* 5, 144-148.

Jarvisalo MJ, Lehtimäki T, Raitakari OT. Determinants of arterial nitrate-mediated dilatation in children: role of oxidized low-density lipoprotein, endothelial function, and carotid intima-media thickness. *Circulation.* 2004;109:2885-2889.

Kahn NN, Acharya K, Bhattacharya S, Acharya R, Mazumder S, Bauman WA, Sinha AK (2000) Nitric oxide: the „second messenger” of insulin. *IUBMB* 49 (5), 441-50.

Koller A, Messina EJ, Wolin MS, Kaley G. Endothelial impairment inhibits prostaglandin and EDRF-mediated arteriolar dilation in vivo. *Am J Physiol.* 1989;257:H1966-70.

Koller A, Kaley G. Endothelium regulates skeletal muscle microcirculation by a blood flow velocity-sensing mechanism. *Am J Physiol.* 1990;258:H916-20.

Koller A, Huang A. Development of Nitric Oxide and Prostaglandin Mediation of Shear Stress- Induced Arteriolar Dilation With Aging and Hypertension. *Hypertension*. 1999;34:1073-1079.

Koller A, Kaley G (1991) A new role for prostaglandins in the regulation of peripheral resistance. *Adv Prostaglandin Thromboxane Leukot Res* 595-598.

Koller A, Sun D, Kaley G (1993) Role of shear stress and endothelial prostaglandins in flow- and viscosity-induced dilation of arterioles in vitro. *Circ Res* 72, 1276-1284.

Koller A, Huang A. Impaired nitric oxide-mediated flow-induced dilation in arterioles of spontaneously hypertensive rats. *Circ Res*. 1994;74:416-21.

Koller A. Signaling pathways of mechanotransduction in arteriolar endothelium and smooth muscle cells in hypertension. *Microcirculation*. 2002;9:277-94.

Koltai MZ, Hadházy P, Pósa I, Kocsis E, Winkler G, Rösen P, Pogátsa G (1997) Characteristics of coronary endothelial dysfunction in experimental diabetes. *Cardiovascular Research* 34, 157-163.

Kontos HA, Wei EP, Kukreja RC, Ellis EF, Hess ML. Differences in endothelium-dependent cerebral dilation by bradykinin and acetylcholine. *Am J Physiol*. 1990;258:H1261-6.

Kozakova M, Palombo C, Pratali L, Pittella G, Galetta F, L'Abbate A. Mechanisms of coronary flow reserve impairment in human hypertension: an integrated approach by transthoracic and transesophageal echocardiography. *Hypertension*. 1997; 29: 551–559.

Kuga MD, Mohri MD, Egashira MD, Hirakawa MD, Tagawa MD, Shimokawa MD, Takeshita MD. Bradykinin-Induced Vasodilation of Human Coronary Arteries In Vivo: Role of Nitric Oxide and Angiotensin-Converting Enzyme. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997;30:108-112.

Kulmacz RJ, Wang LH (1995) Comparison of hydroperoxide initiator requirements for the cyclooxygenase activities of prostaglandin H synthase-1 and -2. *J Biol Chem* 270, 24019-24023.

Kunsch C, Medford RM (1999) Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res* 85, 753-766.

Kuo L, Davis MJ, Chilian WM (1995) Longitudinal gradients for endothelium-dependent and -independent vascular responses in the coronary microcirculation. *Circulation* 92, 518–525.

Lamping KG, Chilian WM, Eastham CL, Marcus ML (1992) Coronary microvascular response to exogenously administered and endogenously released acetylcholine. *Microvasc Res* 43, 294–307.

Lavie CJ, Messerli FH. Cardiovascular adaptation to obesity and hypertension. *Chest*. 1986;90:275-279

Lind L, Hall J, Larsson A, Annuk M, Fellstrom B, Lithell H. Evaluation of endothelium-dependent vasodilation in the human peripheral circulation. *Clinical Physiology*. 2000;20:440-448.

Lin LY, Lee WJ, Shen HN, Yang WS, Pai NH, Su TC, Liao CS. Nitric oxide production is paradoxically decreased after weight reduction surgery in morbid obesity patients. *Atherosclerosis*. 2007;190:436-442

Li PL, Campbell WB (1997) Epoxyeicosatrienoic acids activate K⁺ channels in coronary smooth muscle through a guanine nucleotide binding protein. *Circ Res* 80, 877–884.

Libby P, Ridker PM, Maseri A (2002) Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 105, 1135-1143.

McAdam BF, Catella-Lawson F, Mardini IA, Kapoor S, Lawson JA, FitzGerald GA (1999) Systemic biosynthesis of prostacyclin by cyclooxygenase (COX)-2: The human pharmacology of a selective inhibitor of COX-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 96, 272-277.

Meade EA, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM (1999) Peroxisome proliferators enhance cyclooxygenase-2 expression in epithelial cells. *J Biol Chem* 274, 8328-8334.

Miura H, Wachtel RE, Loberiza FR Jr, Saito T, Miura M, Nicolosi AC, Gutterman DD (2003) Diabetes mellitus impairs vasodilation to hypoxia in human coronary arterioles: reduced activity of ATP-sensitive potassium channels. *Circ Res* 92, 151-158.

Moreno PR, Fuster V (2004) New aspects in the pathogenesis of diabetic atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 44 (12), 2293-300.

Mugge A, Elwell JH, Peterson TE, Harrison DG. Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity. *Am J Physiol*. 1991;260:C219-25.

Mulvany MJ. Structure and function of small arteries in hypertension. *J Hypertens Suppl*. 1990;8:S225-32.

Muntz KH, Garcia CA, Hagler HK (1985) α 1-Receptor localization in rat heart and kidney using autoradiography. *Am J Physiol* 249 (3 Pt 2), H512–H519.

Muntz KH, Meyer L, Gadol S, Calianos TA (1986) α 2-Adrenergic receptor localization in rat heart and kidney using autoradiography and tritiated rauwolscine. *J Pharmacol Exp Ther* 236, 542–547.

Nahser PJ, Brown RE, Oskarsson H, Winniford MD, Rossen JD (1995) Maximal coronary flow reserve and metabolic coronary vasodilation in patients with diabetes mellitus. *Circulation* 91, 635-640.

Naseem KM (2005) The role of nitric oxide in cardiovascular diseases. *Mol Aspects Med* 26 (1-2), 33-65.

Nitenberg A, Valensi P, Sachs R, Dali M, Aptekar E, Attali JR (1993) Impairment of coronary vascular reserve and ACh-induced coronary vasodilation in diabetic patients with angiographically normal coronary arteries and normal left ventricular systolic function. *Diabetes* 42 (7), 1017-25.

Noma A (1983) ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 305, 147–148.

Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S (1988) Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333, 664–666.

Omar HA, Figueroa R, Omar RA, Tejani N, Wolin MS. Hydrogen peroxide and reoxygenation cause prostaglandin-mediated contraction of human placental arteries and veins. *Am J Obstet Gynecol.* 1992;167:201-7.

Palombo C, Kozakova M, Magagna A, Bigalli G, Morizzo C, Ghiadoni L, Virdis A, Emdin M, Taddei S, L'Abbate A, Salvetti A. Early impairment of coronary flow reserve and increase in minimum coronary resistance in borderline hypertensive patients. *J Hypertens.* 2000;18:453-459.

Panza JA, García CE, Kilcoyne CM, Quyyumi AA, Cannon RO 3rd. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. Evidence that nitric oxide abnormality is not localized to a single signal transduction pathway. *Circulation.* 1995 Mar 15;91(6):1732-8.

Parent R, Al-Obaidi M, Lavallée M (1993) Nitric oxide formation contributes to β -adrenergic dilation of resistance coronary vessels in conscious dogs. *Circ Res* 73, 241–251.

Parente L, Perretti M (2003) Advances in the pathophysiology of constitutive and inducible cyclooxygenases: two enzymes in the spotlight. *Biochem Pharmacol* 65, 153-159.

C.J. Pepine, Systemic hypertension and coronary artery disease, *Am J Cardiol* 82 (1998), pp. 21H–24H.

Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH. Obesity and Cardiovascular Disease: Pathophysiology, Evaluation, and Effect of Weight Loss. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006;26:968-976.

Pontsler AV, St.Hilaire A, Marathe GK, Zimmerman GA, McIntyre TM (2002) Cyclooxygenase-2 is induced in monocytes by peroxisome proliferator activated receptor gamma and oxidized alkyl phospholipids from oxidized low density lipoprotein. *Journal of Biological Chemistry* 277, 13029-13036.

Prewitt RL, Chen, II, Dowell R. Development of microvascular rarefaction in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Physiol*. 1982;243:H243-51.

Rodriguez-Manas L, Angulo J, Peiro C, Llergo JL, Sanchez-Ferrer A, Lopez-Doriga P, Sanchez-Ferrer CF (1998) Endothelial dysfunction and metabolic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *Br J Pharmacol* 123 (8), 1495-502.

Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM (1986a) Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 250 (6 Pt 2), H1145–H1149.

Rubanyi GM, Vanhoutte PM (1986b) Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol*, 250, H822-H827.

Rubanyi GM. Vascular effects of oxygen-derived free radicals. *Free Radic Biol Med*. 1988;4:107-20.

Schalkwijk CG, Stehouwer CDA (2005) Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clinical Science* 109, 143-159.

Stratmann B, Tschoepe D (2005) Pathobiology and cell interactions of platelets in diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 2 (1), 16-23.

Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR (2000) Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 321, 405-12.

Sun D, Huang A, Mital S, Kichuk MR, Marboe CC, Addonizio LJ, Michler RE, Koller A, Hintze TH, Kaley G (2002) Norepinephrine elicits beta2-receptor-mediated dilation of isolated human coronary arterioles. *Circulation* 106(5), 550-555.

Swales JD. Textbook of hypertension. 1994.

Schwartzkopff B, Motz W, Frenzel H, Vogt M, Knauer S, Strauer BE. Structural and functional alterations of the intramyocardial coronary arterioles in patients with arterial hypertension. *Circulation*. 1993; 88: 993–1003.

Takase B, Uehata A, Akima T, Nagai T, Nishioka T, Hamabe A, Satomura K, Ohsuzu F, Kurita A. Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in coronary and brachial arteries in suspected coronary artery disease. *The American Journal of Cardiology*. 1998;82:1535-1539.

Tedgui A (2004) Physiopathology of atherosclerosis in diabetics. *Arch Mal Coeur Vaiss* 97 (3), 13-6.

Ungvari Z, Csiszar A, Huang A, Kaminski PM, Wolin MS, Koller A. High pressure induces superoxide production in isolated arteries via protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase. *Circulation*. 2003;108:1253-8.

Vasquez-Vivar J, Kalyanaraman B, Martasek P, Hogg N, Masters BS, Karoui H, Tordo P, Pritchard KA (1998) Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 9220-9225.

Vatner DE, Knight DR, Homcy CJ, Vatner SF, Young MA (1986) Subtypes of β -adrenergic receptors in bovine coronary arteries. *Circ Res* 59, 463–473.

Winer N, Sowers JR (2004) Epidemiology of diabetes. *J Clin Pharmacol* 44, 397-405.

Yan SD, Schmidt AM, Anderson GM, Zhang J, Brett J, Zou YS, Pinsky D, Stern D (1994) Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation end products with their receptors/binding proteins. *J Cell Biol*, 269, 9889-9897.

Zhang X, Scicli GA, Xu X, Nasjletti A, Hintze TH. Role of Endothelial Kinins in Control of Coronary Nitric Oxide Production. *Hypertension*. 1997;30:1105-1111.

Zimmet P, Alberti KG, Shaw J (2001) Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature (London)* 414, 782-787.

8. TÁRGYSZAVAK

metabolikus szindróma

hipertonia

elhízás

diabetes mellitus

coronaria arteriola

mikrokeringés

endothel

nitrogén monoxid

prostaglandin

ciklooxygenáz-2

9. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm a Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Kardiológiai intézetének, kiemelten témavezetőmnek, az intézet igazgatójának, Édes István Professzor Úrnak, hogy tudományos munkámat mindenkor támogatta.

Külön köszönetet mondok társtémavezetőmnek, Bagi Zsolt adjunktus Úrnak a munkámhoz nyújtott önzetlen, fáradságot nem ismerő és pótolhatatlan segítségéért.

Köszönettel tartozom a Klinikai Fiziológia Tanszék vezetőjének, Dr. Papp Zoltánnak, illetve a Tanszék valamennyi dolgozójának.

10. FÜGGELÉK

A függelék az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények különlenyomatait tartalmazza.